

## БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Воробьев С.В.<sup>1,3</sup>, Янишевский С.Н.<sup>1,2</sup>, Емелин А.Ю.<sup>2</sup>, Лебедев А.А.<sup>4,5</sup>, Лебедев С.П.<sup>5</sup>, Макаров Ю.Н.<sup>4,6</sup>,  
Усиков А.С.<sup>4,6</sup>, Клотченко С.А.<sup>7</sup>, Васин А.В.<sup>7,8</sup>

### ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ ГРАФЕНА В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава РФ, 197341, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России, 194044, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, 194100, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>4</sup> ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» Минобрнауки России, 197101, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>5</sup> ФГБУН «Физико-технический институт имени А.Ф. Иоффе» Минобрнауки РФ, 194021, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>6</sup> ООО Группа компаний «Нитридные кристаллы», 194156, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>7</sup> ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Минздрава РФ, 197376, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>8</sup> Институт биомедицинских систем и биотехнологий, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого Минобрнауки России, 194021, Санкт-Петербург, Россия

*Среди наиболее значимых вызовов, предъявляемых современной медицине, находится проблема когнитивных расстройств. Актуальность ее исследования определяется широким распространением нарушений высших корковых функций, их существенным негативным влиянием, оказываемым на качество жизни больных, а также высокими экономическими затратами со стороны государства и родственников пациента, направленными на организацию лечебно-диагностического и реабилитационного процессов. В качестве основной причины когнитивных нарушений у лиц пожилого возраста выступает болезнь Альцгеймера. В настоящее время разработаны и широко применяются на практике критерии диагностики этой нозологической формы. Однако необходимо отметить, что наиболее эффективно их использование при наличии у пациента развернутой клинической картины, на стадии деменции. Кроме того, они предусматривают проведение в ряде случаев исследования биомаркеров в ликворе или при помощи позитронно-эмиссионной томографии, что представляет собой определенные технические сложности. Особенно существенные проблемы возникают на преддементных стадиях. Такое положение диктует необходимость поиска новых перспективных методов диагностики, которые будут обладать высокой чувствительностью и специфичностью, а также возможностью применения на ранних стадиях болезни Альцгеймера в том числе в амбулаторных условиях. В статье приведены сведения о современных методах компьютерной нейровизуализации, рассмотрены направления исследования отдельных биомаркеров, а также показаны перспективы использования диагностических тестовых панелей, разработанных на основе графеновых биосенсоров, с учетом последних достижений нанотехнологий и их интеграции в медицинскую науку.*

**Ключевые слова:** болезнь Альцгеймера; когнитивные нарушения; деменция; биомаркер; графен; биосенсор; обзор.

**Для цитирования:** Воробьев С.В., Янишевский С.Н., Емелин А.Ю., Лебедев А.А., Лебедев С.П., Макаров Ю.Н., Усиков А.С., Клотченко С.А., Васин А.В. Перспективы применения биологических сенсоров на основе графена в ранней диагностике болезни Альцгеймера (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (1): 5-12.

DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-1-5-12>

**Для корреспонденции:** Воробьев Сергей Владимирович, д-р мед. наук, гл. науч. сотр. НИЛ неврологии и нейрореабилитации НМИЦ им. В.А. Алмазова, проф. каф. клин. лаб. диагностики СПбГПМУ; e-mail: [sergiognezdo@yandex.ru](mailto:sergiognezdo@yandex.ru)

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.07.2021

Принята к печати 14.09.2021

Опубликовано 28.01.2022

Vorobev S.V.<sup>1</sup>, Yanishevskij S.N.<sup>1,2</sup>, Emelin A.Yu.<sup>2</sup>, Lebedev A.A.<sup>4,5</sup>, Lebedev S.P.<sup>5</sup>, Makarov Yu.N.<sup>4,6</sup>, Usikov A.S.<sup>4,6</sup>, Klotchenko S.A.<sup>7</sup>, Vasin A.V.<sup>7,8</sup>

PROSPECTS FOR THE USE OF GRAPHENE-BASED BIOLOGICAL SENSORS IN THE EARLY DIAGNOSIS OF ALZHEIMER'S DISEASE (REVIEW OF LITERATURE)

<sup>1</sup> Almazov National Medical Research Centre, 197341, Saint-Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Military Medical Academy named after S.M. Kirov, 194044, Saint-Petersburg, Russia;

<sup>3</sup> Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, 194100, Saint Petersburg, Russia;

<sup>4</sup> Saint Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, 197101, Saint Petersburg, Russia;

<sup>5</sup> Ioffe Institute, 194021, Saint Petersburg, Russia;

<sup>6</sup> Nitride Crystals Group Ltd., 194156, Saint Petersburg, Russia;

<sup>7</sup> Smorodintsev Research Institute of Influenza, 197376, Saint Petersburg, Russia;

<sup>8</sup> Institute of Biomedical Systems and Biotechnology, Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University, 197376, Saint Petersburg, Russia

*Among the most significant challenges presented to modern medicine is the problem of cognitive disorders. The relevance of her research is determined by the wide spread of disorders of the higher cortical functions, their significant negative impact on the quality of life of patients, as well as high economic costs on the part of the state and the patient's relatives aimed at organizing medical, diagnostic and rehabilitation processes. The main cause of cognitive impairment in the elderly is Alzheimer's disease. Currently, the criteria for the diagnosis of this nosological form have been developed and are widely used in practice. However, it should be noted that their use is most effective if the patient has a detailed clinical picture, at the stage of dementia. In addition, they provide for the study of biomarkers in a number of cases in the cerebrospinal fluid or using positron emission tomography, which presents certain technical difficulties. Especially significant problems arise in the pre-dement stages. This situation dictates the need to search for new promising diagnostic methods that will have high sensitivity and specificity, as well as the possibility of application in the early stages of Alzheimer's disease, including in outpatient settings. The article provides information about modern methods of computer neuroimaging, discusses the research directions of individual biomarkers, and also shows the prospects for using diagnostic test panels developed on the basis of graphene biosensors, taking into account the latest achievements of nanotechnology and their integration into medical science.*

**Key words:** *Alzheimer's disease; cognitive impairment; dementia, biomarker; graphene; biosensor; review.*

**For citation:** Vorobev S.V., Yanishevskij S.N., Emelin A.Yu., Lebedev A.A., Lebedev S.P., Makarov Yu.N., Usikov A.S., Klotchenko S.A., Vasin A.V. Prospects for the use of graphene-based biological sensors in the early diagnosis of Alzheimer's disease (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (1): 5-12 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-1-5-12>

**For correspondence:** Vorobev S.V., Dr. Sci. Med., chief researcher laboratory of neurology and neurorehabilitation Almazov National Medical Research Centre, professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics Saint-Petersburg State Pediatric Medical University; e-mail: [sergioenezdo@yandex.ru](mailto:sergioenezdo@yandex.ru)

**Information about authors:**

Vorobev S.V., <https://orcid.org/0000-0002-4830-907X>;  
Yanishevskij S.N., <https://orcid.org/0000-0002-6484-286X>;  
Emelin A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-4723-802X>;  
Lebedev A.A., <https://orcid.org/0000-0003-0829-5053>;  
Lebedev S.P., <https://orcid.org/0000-0002-5078-1322>;  
Makarov Y.N., <https://orcid.org/0000-0002-3711-2650>;  
Usikov A.S., <https://orcid.org/0000-0002-5320-3632>;  
Klotchenko S.A., <https://orcid.org/0000-0003-0289-6560>;  
Vasin A.V., <https://orcid.org/0000-0002-1391-7139>.

**Conflict of interests.** *The authors declare absence of conflict of interests.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 14.07.2021

Accepted 14.09.2021

Published 28.01.2022

**Введение.** В повседневной жизни человеку постоянно приходится обрабатывать, анализировать, систематизировать и запоминать существенный объем поступающей информации, которую в последующем можно будет применить в практических целях. В значительной степени это становится возможным за счет способности реагировать на поступающие сигналы, поддерживать и концентрировать умственную работоспособность. Итогом такой деятельности является возможность планирования и выбора цели, выработка и реализация сложных действий, контроль повседневной деятельности с ее коррекцией в случае необходимости. Реализация этих навыков осуществляется не изолированно, а в тесном контакте с другими людьми в рамках существующего

социума, посредством речевого общения, возможности понимания эмоций и логики действий других лиц. Все это становится возможным благодаря реализации когнитивных (высших корковых) функций. Поэтому изменение их работы приводит к нарушениям бытового, профессионального и социального функционирования, а в случае тяжелых расстройств полностью дезинтегрирует всю деятельность человека. Именно этот аспект выводит проблему диагностики и терапии когнитивных нарушений в состав приоритетных задач современной медицины и общества.

Нужно отметить, что медико-социальная значимость нарушений высших корковых функций обусловлена не только их выраженным дезадаптирующим влиянием на

жизнедеятельность, но также обусловлена широким распространением и высокими затратами на терапию, диагностику и уход. Так, по данным протокола, проведенного в рамках международного консорциума COSMIC, включавшего анализ 11 популяционных исследований, с выборкой более 20 тысяч человек, умеренные когнитивные нарушения (УКН) обнаруживаются у 5,0-36,7% лиц старше 60 лет в зависимости от популяции [1]. Деменция на сегодняшнее время диагностирована у 50 млн человек, в то же время к 2050 г. ожидается увеличение этой цифры до 152 млн [2]. При этом на долю болезни Альцгеймера приходится до 70 % от общего количества тяжелых нарушений высших корковых функций [3].

Общие затраты на ведение пациентов с деменцией составляют ежегодно до 1 трлн долларов США [2]. Существенным является и тот факт, что финансовые потери в значительной степени зависят от степени тяжести когнитивных нарушений и увеличиваются при их прогрессировании. В частности, у больных с результатом по шкале MMSE, равным 21 баллу они составляют до 4861 долларов США, при 20 баллах – 5929 долларов, а при результате 10 баллов возрастают до 26 496 долларов [4]. Естественно, что ранняя и точная диагностика болезни Альцгеймера обеспечит формирование наиболее рационального и эффективного подхода к ведению пациентов, будет способствовать пролонгации периода их профессиональной активности, бытовой и социальной независимости, оптимизирует нагрузку на медицинские и социальные организации, а также на родственников больных и ухаживающих лиц, что в конечном счете обеспечит значимую финансовую экономию.

**Современные критерии диагностики болезни Альцгеймера.** Для диагностики болезни Альцгеймера до настоящего времени достаточно широко используются критерии NINDS-ADRDA (National Institute of Neurological Disorders and Communicative Disorders and Stroke и Alzheimer's Disease and Related Disorders Association). Однако их применение позволяет установить только вероятный или возможный диагноз заболевания, находящегося на стадии выраженных клинических проявлений. Кроме того, чувствительность этих критериев составляет 81%, а специфичность – 70% [5]. В то же время для установления достоверного диагноза необходимо проведение патоморфологического исследования головного мозга, которое выполняется посмертно, либо, в крайне редких случаях, посредством биопсии. Естественно, такой порядок значительно осложняет диагностический поиск. Вследствие этого в 2011 г. группой исследователей Национального института по проблемам старения и ассоциации по изучению болезни Альцгеймера – NIA-AA (National Institute of Aging/Alzheimer's Association) были предложены новые критерии диагностики, позволяющие разграничить клинические аспекты заболевания и его патоморфологические и патофизиологические признаки. При этом были выделены 3 стадии заболевания: бессимптомная доклиническая, преддементная (практически аналогичная стадии умеренных когнитивных нарушений – УКН), деменция [6]. Основной акцент в диагностике бессимптомной доклинической стадии сделан на исследовании биомаркеров вследствие значительной трудности обнаружения у пациентов когнитивных нарушений посредством нейропсихологического обследования и высокой вероятности ошибки [7]. Диагностические критерии преддементной стадии имеют два варианта: один основан на клинических признаках, вто-

рой дополнен исследованием биомаркеров. В качестве последних предложены маркеры амилоидоза и нейродегенерации. На основании сочетания наличия этих компонентов выделяют пациентов с низкой, сомнительной, средней и высокой вероятностью преддементной стадии болезни Альцгеймера [8]. В 2018 г. та же исследовательская группа для оценки стадии и прогрессирования заболевания предложила отдельно выделять биомаркеры амилоидоза, таупатии и нейродегенерации [9, 10].

**Проблема исследования биомаркеров в диагностике болезни Альцгеймера.** Исследование биомаркеров производится либо посредством лабораторного анализа их содержания в цереброспинальной жидкости (в частности определение снижения  $\beta$ -амилоида и накопление  $\tau$ -протеина), либо посредством визуализации в структурах головного мозга с помощью проведения ПЭТ с соответствующими лигандами (например с фторбеттапиром (18F-AV-45) или Питтсбургской субстанцией (PiB) – для определения амилоида или  $^{18}\text{F}$ -AV1451 – для определения белка тау) [11, 12]. Кроме того, для диагностики нейродегенерации используется ПЭТ с  $^{18}\text{F}$ -дезоксиглюкозой, МР-морфометрия, а также структурная МРТ с последующим применением специализированных шкал, таких как шкала глобальной церебральной атрофии (Global Cortical Atrophy, GCA или шкала Pasquier), шкала атрофии медиальной височной доли (Medial Temporallobe Atrophy, MTA), шкала атрофии теменной доли Koedam [13, 14]. При этом необходимо отметить, что несмотря на безусловное повышение качества диагностического поиска посредством внедрения в практику исследования уровня  $\beta$ -амилоида и  $\tau$ -протеина, а также применения новых методов нейровизуализации, решить многие проблемы, связанные с корректной и своевременной постановкой диагноза болезни Альцгеймера, не удалось. Так, в частности, накопление  $\beta$ -амилоида происходит на ранних этапах болезни и возрастает по мере ее прогрессирования. В то же время накопление  $\tau$ -протеина отмечается на развернутых стадиях болезни Альцгеймера, а также при ряде других нозологических форм. Этот аспект с одной стороны снижает специфичность данного теста, а с другой стороны нивелирует его значимость на ранних, додементных, этапах. Кроме того, для определения уровня этих веществ в цереброспинальной жидкости необходимо проведение люмбальной пункции, что практически делает невозможным использование этих методов на амбулаторном этапе. Проведение ПЭТ является весьма дорогостоящим методом, требующим наличия сложного оборудования, вследствие чего может проводиться только в крупных специализированных центрах, что резко снижает доступность к нему пациентов. Кроме того, в нашей стране ПЭТ с лигандами как к  $\beta$ -амилоиду, так и к  $\tau$ -протеину, к сожалению, не проводится вовсе. Выполнение МР-морфометрии также имеет значительные технические сложности и требует наличия специального программного обеспечения и подготовленного персонала, поэтому выполняется практически только в исследовательских целях, но не находит широкого применения в клинической практике. Исходя из этих позиций сохраняется высокая целесообразность разработки принципиально новых методов диагностики, которые можно применять как в амбулаторных, так и стационарных условиях. При этом эти методы должны быть малоинвазивны, достаточно просты технически при проведении и интерпретации результатов, позволять диагностировать болезнь на ранних этапах, обладать высокой

чувствительностью и специфичностью, а также иметь приемлемую цену.

Исходя из выше сказанного, одним из наиболее перспективных направлений является изучение динамики изменения концентраций отдельных биомаркеров в биологических средах, отражающих различные составляющие патохимических процессов, формирующихся на разных стадиях болезни Альцгеймера. Среди них можно выделить маркеры повреждения тел нейронов и их отростков (аксонов, дендритов), маркеры повреждения астроцитов, вещества, отражающие развитие оксидантного стресса и митохондриальную дисфункцию, воспаление, апоптоз и ряд других. При этом такой маркер тем больше будет соответствовать поставленным диагностическим целям, чем сильнее он соответствует следующим параметрам: 1) имеет четкие биохимические свойства; 2) быстро определяется в доступных биологических средах; 3) имеет высокую чувствительность и специфичность в отношении повреждения вещества головного мозга; 4) содержание биомаркера в биологических жидкостях коррелирует с тяжестью повреждения; 5) обеспечивает информацию о характере повреждения мозгового вещества; 6) отражает динамику заболевания и эффективность лечения; 7) прогнозирует функциональный исход; 8) легко идентифицируется и измеряется при помощи широко доступных, несложных методик [15]. Для болезни Альцгеймера к биомаркерам установлены дополнительные критерии, которые включают высокую чувствительность и специфичность (более 85%), наличие при подсчете априорного распределения вероятностей, положительной прогностической ценности (более 80%) по отношению к больным и отрицательной прогностической ценности по отношению к здоровым лицам [16]. К сожалению, подобрать вещество, обладающее оптимальным сочетанием данных свойств на сегодняшний день, не представляется возможным. Учитывая современные знания о патогенезе болезни Альцгеймера можно сказать, что накопление как  $\beta$ -амилоида, так и  $\tau$ -протеина является вторичным по отношению к предшествующим, более ранним патобиохимическим событиям, протекающим в клетках головного мозга. Поэтому обнаружение их в цереброспинальной жидкости может свидетельствовать о том, что патологический процесс уже прошел определенную точку невозврата, за которой возможности терапии резко снижаются. В таких условиях огромную значимость приобретает необходимость выявления веществ, изменение содержания которых в биологических средах не только отражает степень прогрессирования патологического процесса, но и может помочь диагностике на ранних этапах, до формирования развернутой клинической картины. При этом значительной перспективой в этом направлении обладает исследование крови, как один из наиболее доступных для исследования биологических субстратов, в том числе на уровне амбулаторного звена.

Среди маркеров, предложенных для исследования в сыворотке крови, выступает  $\tau$ -протеин. Однако оказалось, что сам по себе этот белок лучше показывает острое поражение головного мозга, но обладает достаточно низкой чувствительностью при диагностике болезни Альцгеймера. При этом он плохо коррелирует с накоплением  $\beta$ -амилоида в головном мозге и содержанием  $\tau$ -белка в ликворе [17, 18]. С этими же целями предпринимались попытки проводить контроль уровня  $\beta$ -амилоида в плазме крови. Однако полученные резуль-

таты оказались весьма противоречивы, и не всегда уровень  $\beta$ -амилоида в крови коррелировал с его содержанием в цереброспинальной жидкости [19; 20; 21].

Еще одним маркером, предложенным для исследования являются легкие цепи нейрофиламентов – НФЛ (Neurofilament Light Chain, NfL). Они представляют собой один из основных компонентов цитоскелета и кроме поддержания внутренней структуры клеток активно участвуют в транспорте различных веществ в аксональные окончания. При ряде заболеваний, в том числе, нейродегенеративной природы, установлено существенное повышение их уровня как в цереброспинальной жидкости, так и в крови [22]. Помимо этого, было определено, что уровень НФЛ в биологических средах достоверно увеличивается за 10-20 лет до развития симптомов при семейных формам болезни Альцгеймера, что делает этот биомаркер весьма перспективным кандидатом для ранней диагностики [23, 24].

На наш взгляд, достаточно эффективным должно быть использование в качестве прогностических факторов оценки течения заболевания так называемых амилоид-деградирующих энзимов. К подобным, в частности, относится цинк-зависимая металлопротеаза неприлизин. Было установлено, что активность неприлизина достоверно снижается в коре головного мозга у пациентов, страдающих болезнью Альцгеймера [25]. Помимо этого, обнаружено снижение его активности и в плазме крови, коррелирующее с результатами, полученными по шкалам MMSE и ADAS-cog [26]. Также в качестве признака нейродегенерации предложено использовать повышение уровня нейрогранина, который является одним из основных постсинаптических кальмодулин-связывающих белков. Его повышенный выход из клетки отражает процессы нарушения синаптической передачи, формирующиеся при болезни Альцгеймера [27, 28]. Кроме рассмотренных, на роль биомаркеров претендует еще достаточно большое количество веществ. В частности, на сайте Альцгеймеровского форума (alzbiomarkeralzforum.org) проведены результаты мета-анализа данных с подбором панели биомаркеров, исследование которых в крови является перспективным с позиций диагностики болезни Альцгеймера [29]. Подробный анализ предложенных к использованию биомаркеров может являться темой отдельного анализа.

Необходимо отметить, что для внедрения в клиническую практику тестов, направленных на детекцию тех или иных веществ в крови в рамках диагностического поиска при нейродегенеративной патологии, необходимо решить две основные проблемы, а именно повысить их чувствительность и специфичность. С одной стороны, содержание определенных биомаркеров в крови определяется не только их нейрональной фракцией, но и периферической составляющей, формирующейся за счет их образования в иных органах или тканях. При этом «церебральная» часть может быть достаточно невелика, вследствие незначительного проникновения данного конкретного вещества из центральной нервной системы через гематоэнцефалический барьер в кровь. С другой стороны, применяющиеся на практике или в научных целях лабораторные методы исследования, такие как иммуноферментный анализ, иммупреципитация, флуориметрический метод и ряд других не обладают достаточной чувствительностью, позволяющей достоверно определять низкие концентрации веществ и их изменения. Широкое использование же других методов,

не представляется возможным, вследствие необходимости наличия сложной дорогостоящей аппаратуры и высококвалифицированного персонала для постановки проб и учета результатов, как, например, при масс-спектрометрии, спектроскопии одиночных молекул, цифровом фермент-связанном иммуносорбентном анализе или анализе кинетики радиоизотопов, обладающим помимо прочего еще и негативным лучевым воздействием на организм обследуемого [30 - 35]. При этом повышение специфичности может быть решено путем разработки тестовой панели, включающей в себя несколько биомаркеров, отражающих формирование различных биохимических процессов. В то же время повышение чувствительности возможно посредством разработки биологических сенсоров, основанных на новых физических принципах.

**Графен и возможности его использования в диагностике болезни Альцгеймера.** Успехи в развитии нанотехнологий, произошедшие за последнее время, продемонстрировали огромный потенциал интеграции передовых решений в медицинскую науку. Одним из перспективных материалов, на основе которого возможно построение панели биосенсоров является графен. Этот материал представляет собой состоящую из атомов углерода двумерную гексагональную кристаллическую решетку толщиной в один атом и обладает достаточно уникальными свойствами. К ним относится высокая механическая прочность, тепло- и электропроводность, химическая стабильность и биосовместимость, высокая подвижность носителей заряда, максимальное отношение площади к объему и низкий уровень шумов. Такое сочетание свойств обеспечивает значимое изменение электропроводности графена при осаждении на нем даже незначительных, исчезающе малых концентраций посторонних веществ [36, 37].

В первой работе К. Новоселова и А. Гейма [38] по получению и исследованию графена, использовался метод *exfoliation* («отшелушивание»), который сводится к отделению от кристалла графита чешуйки, толщиной в один атом. До сих пор получаемые по этой технологии образцы графена обладают наилучшим структурным совершенством. Именно на этих образцах были получены наиболее важные результаты, подтвердившие двумерный характер данного материала. Но их малые размеры, неправильная и заранее непредсказуемая геометрическая форма не позволяют их использовать в промышлен-

ности. Вторыми по уровню структурного совершенства являются пленки графена, получаемые термодеструкцией поверхности карбида кремния (SiC). Этим методом можно получать структуры промышленно важных габаритов, которые ограничиваются только размерами исходной подложки SiC, то есть до 6 дюймов (150 мм). В ФТИ им А.Ф. Иоффе, наряду с другими мировыми научными группами, был освоен способ получения графена методом термодеструкции поверхности монокристаллических подложек SiC. Кроме того, была разработана методика предростового отжига подложек SiC, позволяющая улучшить качество исходной полированной поверхности подложек, что в свою очередь положительно сказалось на качестве выращиваемого графена. Также сотрудниками ФТИ им А.Ф. Иоффе адаптирован ряд современных методов исследования нанобъектов: атомно-силовая микроскопия (АСМ), спектроскопия комбинационного рассеяния света (КРС), Кельвин-зондовая силовая микроскопия (КЗСМ) под характеризацию графеновых пленок.

Одним из основных достоинств метода роста графена на SiC является возможность использования высокоомных подложек. Выращенный на таких подложках графен не требуется переносить на другую диэлектрическую подложку, структуры графен/SiC могут сразу использоваться для создания различных приборов. Еще одним достоинством данного метода роста является определенная ориентация графеновых доменов, которая задается SiC подложкой, что позволяет получать пленки графена большой площади с выделенной азимутальной ориентацией доменов. На рис. 1, *а* представлено изображение рельефа поверхности SiC подложки после роста графена, полученное методом АСМ. Наблюдаемые на изображении узкие продольные террасы, которые покрываются графеном во время роста, определяют общие электрические характеристики выращенной графеновой пленки. Сами террасы разделены между собой ступеньками нанометрового размера (рис. 1, *б*). Проводимость графеновой пленки вдоль данных террас выше, чем ее проводимость поперек террас. Таким образом, выбор направления протекания тока в графеновой пленке путем ориентации структуры прибора вдоль террас позволяет улучшить его электрические характеристики.

Среди перспективных направлений применения графеновых пленок рассматривается создание сверхчув-

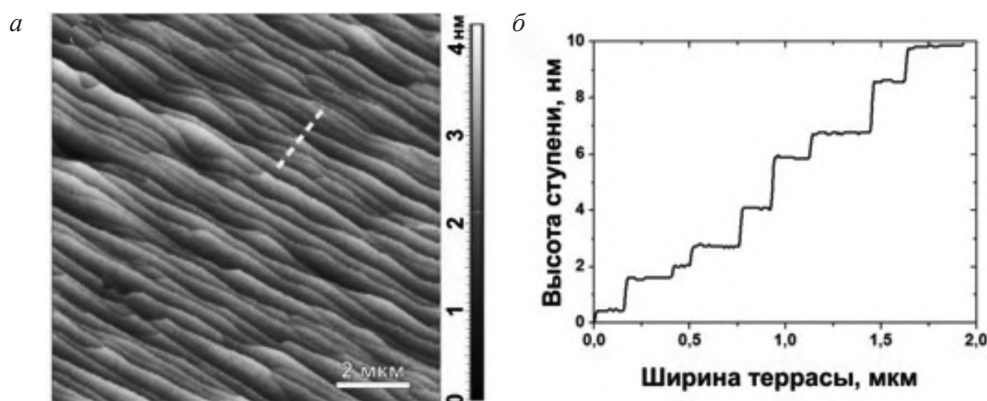


Рис 1. Изображение пленки графена, полученное методом АСМ. *а* – АСМ карта рельефа поверхности подложки SiC после роста графена, *б* – профиль поверхности, полученный вдоль пунктирной линии.

ствительных сенсоров, принцип работы которых основан на изменении сопротивления графена при адсорбции на его поверхности молекул различных соединений. Сенсор представляет собой полоску графена, расположенную на изолирующей подложке SiC с двумя омическими контактами по бокам (рис. 2, а, б). Омические контакты предназначены для создания электрического соединения между графеном и контактными выводами измерительного оборудования.

Сама по себе пленка графена в сенсоре (в чипе) не является селективно-чувствующим сенсором и может адсорбировать на свою поверхность разные вещества и биомолекулы. Для использования графена в качестве биосенсора, селективно чувствующим присоединение детектируемых молекул, применяют дополнительную функционализацию (обработку) его поверхности [39, 40]. Такая обработка создает дополнительные ковалентные связи для иммобилизации специфических антител на поверхности графена.

Каждое антитело (Ab) имеет определенный сайт связывания, который взаимодействует только со строго специфическим уникальным элементом белка – антигена (Ag), что позволяет производить детекцию этого вещества. Этот принцип имеет фундаментальное значение в функционировании иммунной системы человека [41]. Взаимодействие Ab-Ag осуществляется по принципу ключ-замок (key-lock) трехмерной пространственной комплементарности внешних электронных облаков антитела и молекул антигена. *In vitro* эти реакции лежат в основе многих иммунологических методов и широко используются в лабораторной практике.

Концепция биосенсора на пленках графена основана на создании условий для контролируемого прямого взаимодействия Ab-Ag на поверхности графена. Именно это взаимодействие приводит к практически мгновенному изменению электронного состояния графена (его сопротивления), которое может быть зарегистрировано электронным оборудованием. Разрабатываемая концепция биосенсора универсальна для обнаружения белковых соединений различной природы. В реакции взаимодействия Ab-Ag принимают участие только комплементарные (родственные) антитела и антигены, что обеспечивает селективность биосенсора. Посредством этой реакции возможна качественная оценка наличия того или иного протеина в обследуемом биологическом субстрате.

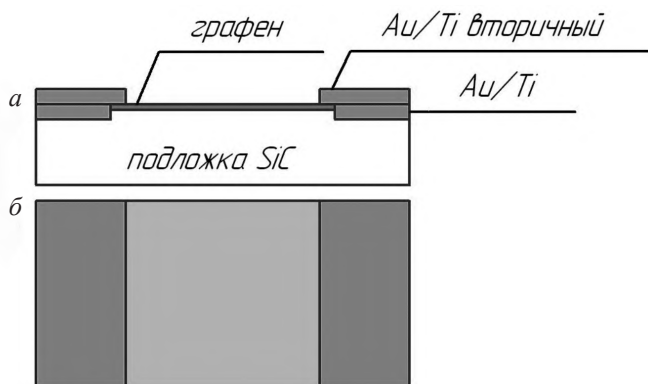


Рис. 2. Схематическое изображение топологии сенсора на основе структуры графен/SiC. а – вид сбоку, б – вид сверху.

В случае предварительной калибровки биосенсоров, когда известен отклик в виде конкретной величины изменения сопротивления на определенные концентрации искомого антигена, становится возможным количественное определение содержания белка в пробе [42].

Авторским коллективом проводилась серия экспериментов с подготовленными и функционализированными чипами на основе пленок графена на SiC подложках по исследованию их чувствительности при контакте с разбавленными растворами антигенов вируса гриппа А и В в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS), концентрация которых изменялась на 5 порядков, начиная со сверхнизкой величины 1 fg/ml ( $10^{-15}$  г/мл) до 100 pg/ml ( $10^{-10}$  г/мл) [43]. Заметим, что концентрация 100 pg/ml является предельной для детектирования вирусов методом полимеразной цепной реакции.

В ходе проведения эксперимента было установлено, что отклик чипа с иммобилизованным антителом вируса гриппа В на воздействие антител вируса гриппа А незначительно меняется с изменением концентрацией антигена А около некоторого среднего значения. При этом, диапазон отклика фактически указывает на отсутствие влияния реакции некомплементарных антитела В и антигена А на электронное состояние пленки графена в чипе. В тоже время воздействие на чип комплементарного ему антигена В демонстрирует четкую зависимость отклика чипа от концентрации антигена. Кроме того, в данном случае наблюдается высокая специфичность антител-антигенной реакции на поверхности графена в чипе (рис. 3, а, б).

Результаты, полученные в эксперименте по детектированию вирусов гриппа чипами на основе пленок графена на подложках SiC, показали принципиальную работоспособность концепции биосенсора, основанной на реакции специфического связывания антитела с комплементарным ему антигеном непосредственно на поверхности графена. При этом продемонстрирована как высокая чувствительность, так и специфичность подобных сенсоров.

В литературе имеются некоторые данные, подтверждающие возможности использования биосенсоров на основе графена в диагностическом процессе болезни Альцгеймера. Так, экспериментально была проверена возможность детекции  $\beta$ -амилоида и  $\tau$ -белка. Установлено, что селективность метода достигает 98%, показывая крайне высокий порог чувствительности, который достигал 100 фемтограмм на мл (для сравнения чувствительность иммуноферментного анализа не превышала 150 нанограмм на мл) [44]. Подобные результаты были продемонстрированы и в другом исследовании, где также установлена высокая чувствительность сенсоров на основе графена, значительно превышающая содержание  $\beta$ -амилоида в плазме крови. Кроме того, определено, что ответ сенсоров в виде изменения сопротивления имеет линейную корреляцию с концентрацией растворенного амилоида [45]. Помимо детекции белков, предпринимаются попытки использования технологии графеновых сенсоров в генетических исследованиях. В частности, была разработана платформа, использующая графеновые квантовые точки, с иммобилизованными на ней ДНК-зондами для определения носительства генотипа АпоЕ4. В эксперименте она продемонстрировала высокую чувствительность, повторяемость и селективность результатов [46]. Учитывая полученные предварительно данные о возможности использования биосенсоров на основе графена с целью обнаружения амилоидо- и таупатии, в рамках ранней диагностики болезни Альцгеймера пред-

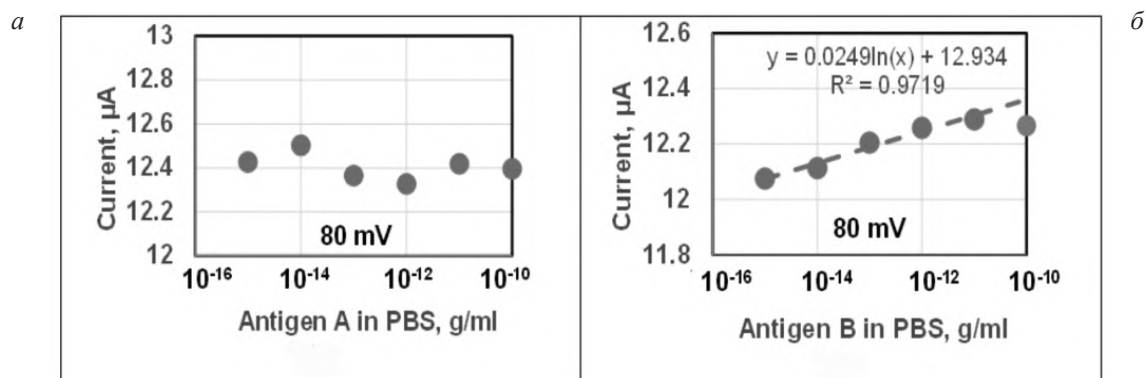


Рис. 3. Отклик чипа с иммобилизованным антителом вируса гриппа В в зависимости от концентрации антигена вируса А (а) или В (б) в растворе PBS. Пунктирная линия представляет аппроксимацию данных логарифмической функцией с параметром  $R^2=0,97$ .

ложено использовать их для определения и иных веществ, таких, как нейротрансмиттеры, показатели окислительного стресса и другие [47].

**Заключение.** Таким образом, разработка панели определения биомаркеров на основе графеновых сенсоров имеет большие перспективы. Эта работа позволит глубже понять патобиохимические процессы, развивающиеся в рамках данного заболевания. Кроме того, учитывая потенциально высокую чувствительность и специфичность, подобная панель может кардинально увеличить наши возможности диагностики болезни Альцгеймера, особенно на ранних этапах, будет способствовать выделению лиц с повышенным риском развития клинических проявлений, поможет оценить вероятность ближайшего прогноза течения, а также эффективность проводимой терапии.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1–8, 10–12, 15–25, 27–32, 34, 35, 37–41, 43–47 см. REFERENCES)

9. Емелин А.Ю., Лобзин В.Ю., Воробьев С.В. Когнитивные нарушения: руководство для врачей. М.: ПАО «Т8 Издательские технологии»; 2019.
13. Незнанов Н.Г., Ананьева Н.И., Залуцкая Н.М., Стулов И.К., Гальсман И.Е., Бельцева Ю.А. Визуальная шкальная МРТ оценка атрофических изменений головного мозга в диагностике ранней стадии болезни Альцгеймера (1 этап исследования). *Обзорные психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева*. 2016; 4: 61–5.
14. Литвиненко И.В., Емелин А.Ю., Лобзин В.Ю., Колмакова К.А. Нейровизуализационные методы диагностики болезни Альцгеймера и цереброваскулярных заболеваний, сопровождающихся когнитивными нарушениями. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2019; 11(3S): 18–25.
26. Журавин И.А., Наливаева Н.Н., Козлова Д.И., Кочкина Е.Г., Федорова Я.Б., Гаврилова С.И. Активность холинэстераз и неприлизина плазмы крови как потенциальные биомаркеры синдрома мягкого когнитивного снижения и болезни Альцгеймера. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015; 12: 110–7.
33. Бочарова Ю.А., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Возможности, проблемы и перспективы масс-спектрометрических технологий в медицинской микробиологии (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(4): 249–56.
36. Лебедев А.А., Давыдов В.Ю., Новиков С.Н., Литвин Д.П., Макаров Ю.Н., Климович В.Б. и др. Биосенсоры на основе графена. *Письма в журнал технической физики*. 2016; 42(14): 28–35.
42. Усиков А.С., Лебедев С.П., Робенков А.Д., Бараш И.С., Новиков С.В., Пузык М.В. и др. Исследование чувствительной способности графена для применений в качестве биосенсоров. *Письма в журнал технической физики*. 2020; 46(10): 3–6.

## REFERENCES

1. Sachdev P.S., Lipnicki D.M., Kochan N.A., Crawford J.D., Thalamuthu A., Andrews G. et al. The Prevalence of Mild Cognitive Impairment in Diverse Geographical and Ethnocultural Regions: The COSMIC Collaboration. *PLoS One*. 2015; 10 (11): e0142388. <http://doi: 10.1371/journal.pone.0142388>.
2. Patterson C. Alzheimer's Disease International; London: 2018. *World Alzheimer report*. 2018: 1–48; <https://www.alzint.org/u/WorldAlzheimerReport2018.pdf>.
3. Reitz C., Brayne C., Mayeux R. Epidemiology of Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2011; 7 (3): 137–52. <http://doi:10.1038/nrneurol.2011.2>.
4. Hauber A.B., Gnanasakthy A., Snyder E.H., Bala M.V., Richter A., Mauskopf J.A. Potential savings in the cost of caring for Alzheimer's Disease. Treatment with rivastigmine. *Pharmacoeconomics*. 2000; 17 (4): 351–60. <http://doi: 10.2165/00019053-200017040-00005>.
5. McKhann G.M., Knopman D.S., Chertkow H., Hyman B.T., Jack Jr. C.R., Kawas C.H. et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging–Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheim Dement*. 2011; 7(3): 263–9. <http://doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.005>.
6. Jack Jr. C.R., Albert M.S., Knopman D.S., McKhann G.M., Sperling R.A., Carrillo M.C. et al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging–Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheim Dement*. 2011; 7 (3): 257–62. <http://doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.004>.
7. Sperling R.A., Aisen P.S., Beckett L.A., Bennett D.A., Craft S., Fagan A.M. et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging–Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheim Dement*. 2011; 7(3): 280–92. <http://doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.003>.
8. Albert M.S., DeKosky S.T., Dickson D., Dubois B., Feldman H.H., Fox N.C. et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging–Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheim Dement*. 2011; 7(3): 270–9. <http://doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.008>.
9. Emelin A.Yu., Lobzin V.Yu., Vorob'ev S.V. Cognitive disorders: a guide for doctors. Moscow: PAO «Т8 Izdatel'skie Tekhnologii»; 2019. (in Russian)
10. d'Abramo C., D'Adamo L., Giliberto L. Significance of Blood and Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Alzheimer's Disease: Sensitivity, Specificity and Potential for Clinical Use. *J. Pers. Med*. 2020; 10(3): 116. <http://doi: 10.3390/jpm10030116>.
11. Harada R., Okamura N., Furumoto S., Tago T., Yanai K., Arai H. et al. Characteristics of Tau and Its Ligands in PET Imaging. *Biomolecules*; 2016; 6 (1): 7. <https://doi.org/10.3390/biom6010007>.
12. Camus V., Payoux P., Barré L., Desgranges B., Voisin T., Tauber C. et al. Using PET with 18F-AV-45 (florbetapir) to quantify brain amyloid load in a clinical environment. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2012; 39(4): 621–31. <http://doi: 10.1007/s00259-011-2021-8>.

## BIOCHEMISTRY

13. Neznanov N.G., Anan'eva N.I., Zaluckaya N.M., Stulov I.K., Gal'sman I.E., Bel'ceva Yu.A. et al. Visual school MRI assessment of atrophic changes in the brain in the diagnosis of early-stage Alzheimer's disease (stage 1 of the study). *Obozrenie psikhiatrii I meditsinskoy psikhologii im. V.M. Bekhterev*. 2016; 4: 61-5. [https://psichiatri.ru/files/magazines/2016\\_12\\_obozr\\_1003.pdf](https://psichiatri.ru/files/magazines/2016_12_obozr_1003.pdf). (in Russian)
14. Litvinenko I.V., Emelin A.Yu., Lobzin V.Yu., Kolmakova K.A. Neuroimaging methods for the diagnosis of Alzheimer's disease and cerebrovascular diseases accompanied by cognitive impairment. *Nevrologiya, Neyropsikhiatriya, Psichosomatika*. 2019; 11(3S): 18-25. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2019-3S-18-25>. (in Russian)
15. Papa L., Robinson G., Oli M., Pineda J., Demery J., Brophy G. et al. Use of biomarkers for diagnosis and management of traumatic brain injury patients. *Expert Opin Med Diagn*. 2008; 2(8): 937-45. <https://doi:10.1517/17530059.2.8.937>.
16. Lewczuk P., Riederer P., O'Bryant S.E., Verbeek M.M., Dubois B., Visser J.P. et al. Cerebrospinal fluid and blood biomarkers for neurodegenerative dementias: An update of the Consensus of the Task Force on Biological Markers in Psychiatry of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry. *World J. Biol. Psychiatry*. 2018; 19(4): 244-328. <https://doi:10.1080/15622975.2017.1375556>.
17. Mielke M.M., Hagen C.E., Wennberg A.M.V., Airey D.C., Savica R., Knopman D.S. et al. Association of plasma total tau level with cognitive decline and risk of mild cognitive impairment or dementia in the mayo clinic study on aging. *JAMA Neurol*. 2017; 74(9): 1073-80. <https://doi:10.1001/jamaneurol.2017.1359>.
18. Pereira J.B., Westman E., Hansson O. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Association between cerebrospinal fluid and plasma neurodegeneration biomarkers with brain atrophy in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*. 2017; 58: 14-29. <https://doi:10.1016/j.neurobiolaging.2017.06.002>.
19. Jia L., Qiu Q., Zhang H., Chu L., Du Y., Zhang J. et al. Concordance between the assessment of A $\beta$ 42, T-tau, and P-T181-tau in peripheral blood neuronal-derived exosomes and cerebrospinal fluid. *Alzheimers Dement*. 2019; 15(8): 1071-80. <https://doi:10.1016/j.jalz.2019.05.002>.
20. Rembach A., Faux N.G., Watt A.D., Pertile K.K., Rumble R.L., Trounson B.O. et al. Changes in plasma amyloid beta in a longitudinal study of aging and Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2014; 10(1): 53-61. <https://doi:10.1016/j.jalz.2012.12.006>.
21. Hanon O., Vidal J.S., Lehmann S., Bombois S., Allinquant B., Tré-luyer J.-M. et al. Plasma amyloid levels within the Alzheimer's process and correlations with central biomarkers. *Alzheimers Dement*. 2018; 14(7): 858-68. <https://doi:10.1016/j.jalz.2018.01.004>.
22. Khalil M., Teunissen C.E., Otto M., Piehl F., Sormani M.P., Gatteringer T. et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat. Rev. Neurol*. 2018; 14(10): 577-89. <https://doi:10.1038/s41582-018-0058-z>.
23. Weston P.S.J., Poole T., O'Connor A., Heslegrave A., Ryan N.S., Liang Y. et al. Longitudinal measurement of serum neurofilament light in presymptomatic familial Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res. Ther*. 2019; 11(1): 19. <https://doi:10.1186/s13195-019-0472-5>.
24. Schultz S.A., Strain J.F., Adedokun A., Wang Q., Preische O., Kuhle J. et al. Serum neurofilament light chain levels are associated with white matter integrity in autosomal dominant Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis*. 2020; 142: 104960. <https://doi:10.1016/j.nbd.2020.104960>.
25. Zhang H., Liu D., Wang Y., Huang H., Zhao Y., Zhou H. Meta-analysis of expression and function of neprilysin in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*. 2017; 657: 69-76. <https://doi:10.1016/j.neulet.2017.07.060>.
26. Zhuravin I.A., Naliyaeva N.N., Kozlova D.I., Kochkina E.G., Fedorova Ya.B., Gavrilova S.I. Plasma cholinesterase and neprilysin activity as potential biomarkers of mild cognitive decline syndrome and Alzheimer's disease. *Zhurnal nevrologii I psikhiatrii im. S.S. Korsakov*. 2015; 12: 110-7. <https://doi:10.171116/jnevro20151115112110-117>. (in Russian)
27. Casaletto K.B., Elahi F.M., Bettcher B.M., Neuhaus J., Bendlin B.B., Asthana S. et al. Neurogranin, a synaptic protein, is associated with memory independent of Alzheimer biomarkers. *Neurology*. 2017; 89(17): 1782-8. <https://doi:10.1212/WNL.0000000000004569>.
28. Zetterberg H., Bendlin B.B. Biomarkers for Alzheimer's disease-preparing for a new era of disease-modifying therapies. *Mol. Psychiatry*. 2021; 26(1): 296-308. <https://doi:10.1038/s41380-020-0721-9>.
29. Alzforum.org [electronic resource]. <http://www.alzforum.org/alz-biomarker>.
30. Wennström M., Surova Y., Hall S., Nilsson C., Minthon L., Hansson O. et al. The Inflammatory Marker YKL-40 Is Elevated in Cerebrospinal Fluid from Patients with Alzheimer's but Not Parkinson's Disease or Dementia with Lewy Bodies. *PLoS ONE*. 2015; 10(8): e0135458. <https://doi:10.1371/journal.pone.0135458>.
31. Janelidze S., Stomrud E., Palmqvist S., Zetterberg H., van Westen D., Jeromin A. et al. Plasma  $\beta$ -Amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. *Sci. Rep*. 2016; 6: 26801. <https://doi:10.1038/srep26801>.
32. Song L., Lachno D.R., Hanlon D., Shepro A., Jeromin A., Gemani D. et al. A digital enzyme-linked immunosorbent assay for ultrasensitive measurement of amyloid- $\beta$  1-42 peptide in human plasma with utility for studies of Alzheimer's disease therapeutics. *Alzheimers Res Ther*. 2016; 8(1): 58. <https://doi:10.1186/s13195-016-0225-7>.
33. Bocharova Yu.A., Chebotar' I.V., Mayanskiy N.A. Opportunities, problems and prospects of mass spectrometric technologies in medical microbiology (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2016; 61(4): 249-56. <https://doi:10.18821/0869-2084-2016-61-4-249-256>. (in Russian)
34. Ovod V., Ramsey K.N., Mawuenyega K.G., Bollinger J.G., Hicks T., Schneider T. et al. Amyloid  $\beta$  concentrations and stable isotope labeling kinetics of human plasma specific to central nervous system amyloidosis. *Alzheimers Dement*. 2017; 13(8): 841-9. <https://doi:10.1016/j.jalz.2017.06.2266>.
35. Verberk I.M.W., Slot R.E., Verfaillie S.C.J., Heijst H., Prins N.D., van Berckel B.N.M. et al. Plasma Amyloid as Prescreener for the Earliest Alzheimer Pathological Changes. *Ann. Neurol*. 2018; 84(5): 648-58. <https://doi:10.1002/ana.25334>.
36. Lebedev A.A., Davydov V.Yu., Novikov S.N., Litvin D.P., Makarov Yu.N., Klimovich V.B. et al. Graphene-based biosensors. *Pis'ma v zhurnal tekhnicheskoy fiziki*. 2016; 42(14): 28-35. <https://journals.ioffe.ru/articles/viewPDF/43411>. (in Russian)
37. Chauhan N., Maekawa T., Kumar D.N.S. Graphene based biosensors-Accelerating medical diagnostics to new-dimensions. *J. Mater. Res*. 2017; 32(15): 2860-82. <https://doi:10.1557/jmr.2017.91>.
38. Schedin F., Geim A.K., Morozov S.V., Hill E.W., Blake P., Katsnelson M.I. et al. Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene. *Nat. Mater*. 2007; 6(9): 652-5. <https://doi:10.1038/nmat1967>.
39. Georgakilas V., Otyepka M., Bourlinos A.B., Chandra V., Kim N., Kemp K.C. et al. Functionalization of graphene: covalent and non-covalent approaches, derivatives and applications. *Chem. Rev*. 2012; 112(11): 6156-6214. <https://doi:10.1021/cr3000412>.
40. Tehrani Z., Burwell G., Mohd Azraie M.A., Castaing A., Rickman R., Almarashi J.Q.M. et al. Generic epitaxial graphene biosensors for ultrasensitive detection of cancer risk biomarker. *2D Materials*. 2014; 1(2): 025004. <https://doi.org/10.1088/2053-1583/1/2/025004>.
41. Davies D.R., Sheriff S., Padlan E.A. Antibody-Antigen Complexes. *J. Biological Chemistry*. 1988.263(22):10541-4. <https://doi:10.1146/annurev.biochem.59.1.439>.
42. Usikov A.S., Lebedev S.P., Roenkov A.D., Barash I.S., Novikov S.V., Puzyk M.V. et al. Investigation of the sensitivity of graphene for use as biosensors. *Pis'ma v zhurnal tekhnicheskoy fiziki*. 2020; 46(10): 3-6. <https://doi:10.21883/PJTF.2020.10.49421.18250>. (in Russian)
43. Lebedev A.A., Davydov S.Y., Elisseyev I.A., Roenkov A.D., Avdeev O., Lebedev S.P. et al. Graphene on SiC Substrate as Biosensor: Theoretical Background, Preparation and Characterization. *Materials (Basel)*. 2021; 14(3): 590. <https://doi.org/10.3390/ma14030590>.
44. Demeritte T., Nellore B.P.V., Kanchanapally R., Sinha S.S., Pramanik A., Chavva S.R. et al. Hybrid Graphene Oxide Based Plasmonic-Magnetic Multifunctional Nanoplatfrom for Selective Separation and Label-Free Identification of Alzheimer's Disease Biomarkers. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2015; 7(24): 13693-700. <https://doi:10.1021/acsami.5b03619>.
45. Sun L., Zhong Y., Gui J., Wang X., Zhuang X., Weng J. A hydrogel biosensor for high selective and sensitive detection of amyloid-beta oligomers. *Int. J. Nanomedicine*. 2018; 13: 843-56. <https://doi:10.2147/IJN.S152163>.
46. Mars A., Hamami M., Bechnak L., Patra D., Raouafi N. Curcumin-graphene quantum dots for dual mode sensing platform: Electrochemical and fluorescence detection of APOe4, responsible of Alzheimer's disease. *Anal. Chim. Acta*. 2018; 1036: 141-6. <https://doi:10.1016/j.aca.2018.06.075>.
47. Toyos-Rodríguez C., García-Alonso F.J., de la Escosura-Muñiz A. Electrochemical Biosensors Based on Nanomaterials for Early Detection of Alzheimer's Disease. *Sensors (Basel)*. 2020; 20(17): 4748. <https://doi:10.3390/s20174748>.