

The application and practice of chemistry in wearable devices for body fluid analysis

# LA APLICACIÓN Y PRÁCTICA DE LA QUÍMICA EN DISPOSITIVOS PONIBLES PARA EL ANÁLISIS DE FLUIDOS CORPORALES

Hsin-Hua Nien<sup>1,2</sup>; Bor-Ran Li<sup>1,3,4</sup>

Los dispositivos ponibles mejoran la atención médica personalizada. Estos dispositivos pueden presentarse en varias formas como lentes de contacto, relojes y parches cutáneos, para adaptarse a la aplicación clínica final. Los dispositivos ponibles se pueden usar para analizar diferentes fluidos corporales como el líquido intersticial, la orina, las lágrimas, la saliva y el sudor. La química juega un papel esencial en el análisis de los componentes de los fluidos corporales. De hecho, el diseño del método de análisis químico afecta el modo de visualización de los resultados analíticos, la precisión de la detección y la estabilidad del dispositivo. Este artículo es una revisión de cómo se puede aplicar de manera práctica la química en dispositivos ponibles para el análisis de fluidos corporales. La integración de la química con otros sistemas de detección ofrece muchas posibilidades y oportunidades para el desarrollo futuro de dispositivos ponibles para el cuidado de la salud.

**Palabras clave:** Dispositivo ponible, glucosa, lactato, atención médica

Wearable devices improve personalize health care. The wearable devices can come in various convenient forms such as contact lenses, watch and skin patch to fit the clinical application. The wearable devices can be applied on different body fluid type including interstitial fluid, urine, tear, saliva, and sweat. Chemistry plays an important role on body fluid component analysis. Delicate design of chemistry response affects the analytic result display mode, detection accuracy and device stability. This article reviews the application and practice of chemistry in wearable device of body fluid analysis. Integration of chemistry and other detection systems provides many possibilities and opportunities on the development of future healthcare wearable devices.

**Keywords:** Wearable device, glucose, lactate, healthcare

Recibido: 10 de septiembre 2023\*

Aceptado en forma final: 10 de noviembre de 2023

Cómo citar este artículo:

Nien, H.-H. y Li, B.-R.: "La aplicación y práctica de la química en dispositivos ponibles para el análisis de fluidos corporales". *Revista de Química*, 2023, 37(2), 21-32. DOI: <https://doi.org/10.18800/quimica.202302.003>

<sup>1</sup> Institute of Biomedical Engineering, National Yang Ming Chiao Tung University, Hsinchu 30010, Taiwan

<sup>2</sup> College of Electrical and Computer Engineering, National Yang Ming Chiao Tung University, Hsinchu, Taiwan.

<sup>3</sup> Department of Electronics and Electrical Engineering, National Yang Ming Chiao Tung University, Hsinchu 30010, Taiwan

<sup>4</sup> Center for Emergent Functional Matter of Science, National Yang Ming Chiao Tung University, Hsinchu 30010, Taiwan

Hsin-Hua Nien  <https://orcid.org/0000-0003-2323-7177> Bor-Ran Li  <https://orcid.org/0000-0003-2266-680X>

\* Este artículo fue recibido inicialmente en inglés y revisado por el director y dos editores en el idioma original. Posteriormente, fue traducido y revisado de nuevo por las mismas personas.

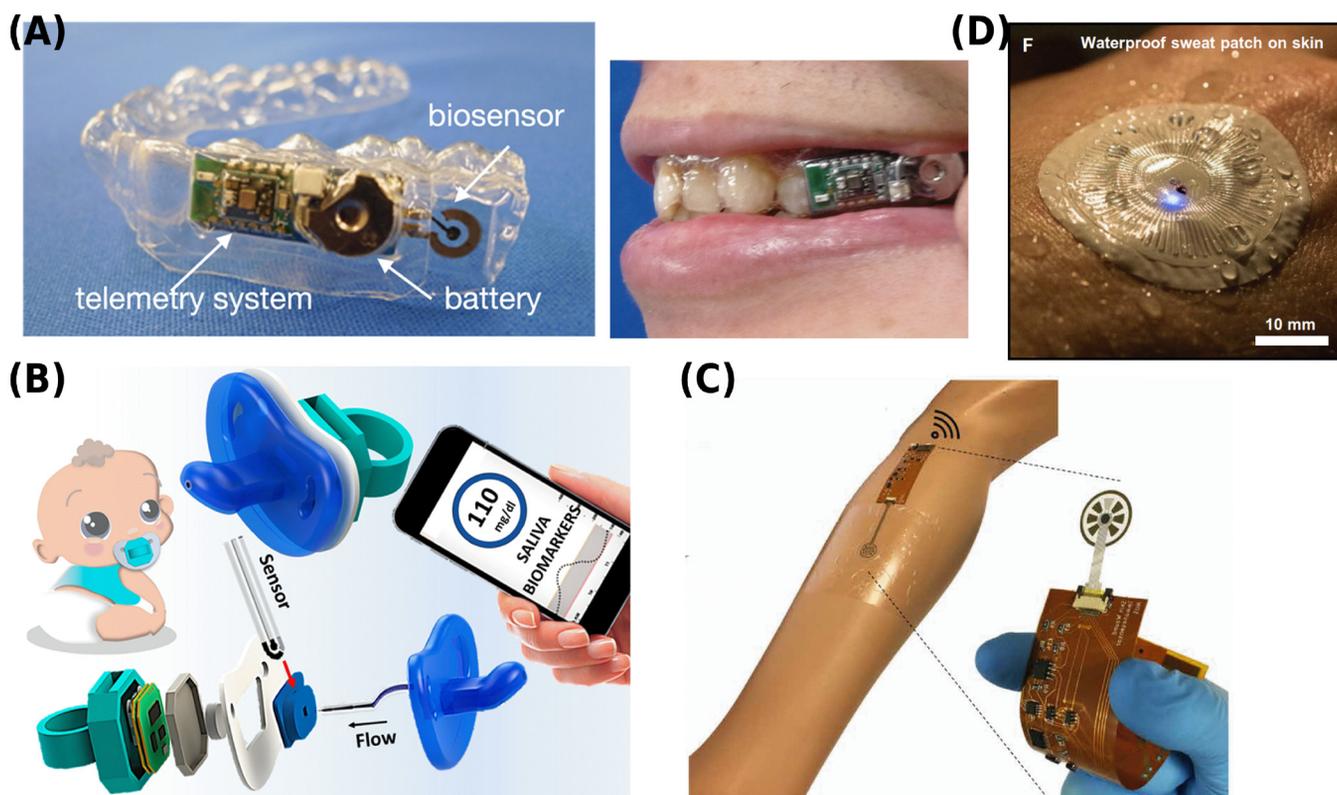


## INTRODUCCIÓN

Los dispositivos ponibles (es decir, que se pueden llevar puestos)\* brindan soluciones cómodas para mejorar la atención médica actual sin necesidad de asistir a un hospital. En general, es habitual acudir a un centro médico cuando se requiere información de salud como la frecuencia cardíaca, la presión arterial, la concentración de oxígeno o datos bioquímicos que impliquen análisis de sangre. Los principales inconvenientes que se encuentran en estos casos son la necesidad de desplazamiento al centro sanitario, la necesidad de personal médico que asista a la persona y los largos tiempos de espera para recibir los resultados, especialmente en el caso de los análisis de sangre. Hoy en día, sin embargo, un reloj puede medir los pasos diarios y analizar el movimiento corporal durante el ejercicio mediante un exquisito diseño de giroscopios. Pero sus limitaciones no acaban ahí, los dispositivos ponibles tales como un reloj inteligente se pueden

aplicar para medir los cambios de señales bioquímicas de los fluidos corporales con el fin de obtener información importante sobre la salud de manera personalizada, fácil y cómoda.

Además del formato de reloj, que ya se encuentra en el mercado, se han investigado y desarrollado ampliamente otros dispositivos ponibles para la detección y análisis de fluidos corporales. Estos nuevos dispositivos se pueden aplicar para el análisis de, por ejemplo, el líquido intersticial, la saliva, las lágrimas, la orina y el sudor. Los dispositivos pueden ser simples parches cutáneos que son fácilmente removibles, pero pueden también diseñarse dispositivos más complejos y avanzados que puedan adaptarse a los diferentes fluidos corporales de interés. Por ejemplo, la mayoría de los dispositivos ponibles para la detección de saliva tienen forma de protector bucal y se colocan en la boca para la medición continua (**Figura 1A**). Sin embargo, para la medición de lágrimas, las lentes de contacto son el producto ponible más



**Figura 1.** Diversos ejemplos de dispositivos ponibles. **(A)** Dispositivo integrado en un protector bucal para el análisis del nivel de glucosa en la saliva. Adaptado con permiso de Arakawa T. *et al.* *Wearable Cellulose Acetate-Coated Mouthguard Biosensor for In Vivo Salivary Glucose Measurement.* *Anal. Chem.* **2020**, *92* (18), 12201–12207. © 2019 American Chemical Society. **(B)** Chupete o chupón para monitorización de glucosa en la saliva de bebés. Adaptada con permiso de García-Carmona, L. *et al.* *Pacifier Biosensor: Toward Noninvasive Saliva Biomarker Monitoring.* *Anal. Chem.* **2019**, *91* (21), 13883–13891. © 2019 American Chemical Society. **(C)** Parche cutáneo para monitorear el estado de heridas. Adaptado de Gao, Y. *et al.* *A Flexible Multiplexed Immunosensor for Point-of-Care in Situ Wound Monitoring.* *Sci. Adv.* **2021**, *7* (21), eabg9614 (CC BY 4.0) **(D)** parche resistente al agua para el monitoreo de la hidratación durante el ejercicio de deportes acuáticos. Imagen de Reeder, J. T. y col. *Waterproof, Electronics-Enabled, Epidermal Microfluidic Devices for Sweat Collection, Biomarker Analysis, and Thermography in Aquatic Settings.* *Sci. Adv.* **2019**, *5* (1), eaau6356. (CC BY-NC 4.0).

\* El artículo original en inglés usa la palabra “wearable”, que significa en el contexto del tema tratado “dispositivo que se coloca en una persona (en el ojo, en un brazo, etc) y se puede llevar puesto”. La traducción recomendada sería “ponible”, como un objeto que se pone y se lleva puesto, y no portátil, ya que este último no implicar llevar algo puesto en el cuerpo, sino llevarlo de cualquier forma.

conveniente donde integrar el dispositivo de medida. En la **Figura 1** se muestran algunos ejemplos de dispositivos posibles que se tratarán en este artículo.

Para obtener información bioquímica de los fluidos corporales con un dispositivo posible, se requiere un diseño complejo a microescala para integrar todos los componentes. En el caso de los dispositivos para el cuidado de la salud, los componentes más importantes son el microcircuito electrónico para la transferencia de información y el sistema de microfluidos para manipular las sustancias de interés. Asimismo, para el análisis de los componentes bioquímicos de los fluidos corporales es crítico el conocimiento avanzado de la química, especialmente en lo que se refiere al enlace entre moléculas y a las posibles reacciones químicas entre ellas, ya que de estas depende la inmovilización de enzimas, el análisis de los biomarcadores y la detección de señales en el futuro dispositivo<sup>1,2</sup>. Para el análisis cuantitativo de biomarcadores se utilizan electrodos fijados con material biosensible que incluye anticuerpos, enzimas, péptidos o mediadores, que al unirse con el biomarcador generan señales eléctricas. También se pueden usar sistemas de biodetección optofluídicos que pueden detectar y medir las reacciones de competencia y acople entre los sensores y los biomarcadores pues estos alteran las señales medibles<sup>3</sup>. Del mismo modo, también se pueden llevar a cabo reacciones colorimétricas en soluciones tampón con el fin de completar todo el análisis.<sup>4</sup> De forma resumida, puede decirse que los dispositivos posibles pueden medir de forma continua datos bioquímicos, convertirlos en formatos digitales y transmitirlos de manera inalámbrica para un posterior seguimiento de los biomarcadores.

## PRINCIPIOS DE DETECCIÓN BIOQUÍMICOS

### Detección colorimétrica

La detección colorimétrica se utiliza ampliamente en la detección de metabolitos de biofluidos. En este tipo de detección, los analitos de interés reaccionan con el reactivo del sensor y generan una reacción química específica que cambia el color. El coste del dispositivo portátil colorimétrico es relativamente bajo y la mayoría de los chips son desechables. Por otro lado, su simplicidad y la medición intuitiva (por observación de un cambio de color) hacen que la detección colorimétrica sea adecuada especialmente cuando se quieren detectar cantidades límite que adviertan de un problema durante la vida diaria o en los casos en que se desea realizar un seguimiento personalizado. Las sustancias de interés para la detección colorimétrica en dispositivos microfluídicos posibles incluyen el agua<sup>5-7</sup>, la glucosa<sup>5,8-10</sup>, el lactato<sup>5,10</sup>, los iones cloruro<sup>5,8,10,11</sup>, el pH<sup>5,9,10,12</sup>, la temperatura<sup>10,11</sup>, el nivel de proteínas<sup>9</sup>, los iones nitrito<sup>9</sup>, el ácido úrico<sup>13</sup>, y la urea<sup>8</sup>.

La detección colorimétrica de marcadores en biofluidos puede hacerse a simple vista o mediante un teléfono inteligente equipado con un software de análisis de imágenes digitales. De hecho, este último formato se utiliza ampliamente en competiciones deportivas o durante el entrenamiento físico. Para medios acuosos, se puede aprovechar como indicador colorimétrico al cloruro de cobalto (II),  $\text{CoCl}_2$ , el cual se añade a los hidrogeles en los sensores de flujo.<sup>5-7</sup> Además del  $\text{CoCl}_2$ , otros colorantes que se han usado como medidores de flujo son el gel violeta Americolor 11 y colorantes alimentarios secos<sup>14</sup>. Para la determinación del pH, los reactivos habituales son el púrpura de bromocresol, el azul de bromotimol, el rojo de metilo y la fenolftaleína.

La cantidad del biomarcador también se puede detectar mediante una reacción enzimática con un cofactor y un reactivo cromogénico (sustancia que cambia de color). Por ejemplo, para la detección de lactato, se usa formazán, que cambia de color cuando interaccionan la enzima lactato oxidasa (LOx), la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) y la diaforasa. La detección de glucosa, por otro lado, se puede realizar mediante el uso de la enzima glucosa oxidasa (GOx) y de yoduro. En este caso, el peróxido de hidrógeno producido por la oxidación de la glucosa induce la oxidación del yoduro a yodo y un cambio de color de amarillo a marrón, fácilmente detectable.<sup>5</sup> Otra alternativa la ofrecen Moreddu *et al.*, quienes eligieron la 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) para oxidarla con peróxido de hidrógeno en presencia de glucosa lo que dio lugar a un cambio de color de amarillo a verde.<sup>9</sup> Los dispositivos presentados en esta última investigación también usaron la 3,3',5,5'-tetraclorofenol-3,4,5,6-tetrabromosulfoftaleína para la detección de la presencia o ausencia de proteínas y una mezcla de 3-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidro -7,8-benzoquinolina y sulfanilamida para detectar la presencia de nitritos.

El método colorimétrico también tiene sus inconvenientes, entre los que destaca que es difícil de utilizar para medir biomarcadores en bajas concentraciones. La mayoría de los dispositivos colorimétricos posibles se centran en la detección de lactato e iones cloruro debido a su alto contenido en el sudor. En esos casos, la imagen se puede capturar a través de un teléfono inteligente y luego el nivel RGB del color de la imagen se analiza mediante un software que ayuda a reconocer la concentración del analito. En el parche de piel diseñado por el grupo de Choi, por ejemplo, este contiene los marcadores de color de referencia impresos alrededor de la región donde se realizan las reacciones colorimétricas. De este modo, al tomarse la foto se ven simultáneamente los fluidos coloreados de referencia y el que se está analizando, lo que permite comparar los niveles RGB de la imagen y cuantificar el analito objetivo.<sup>10</sup> Este diseño se ha aplicado también en lentes de contacto para detectar el pH, la glucosa, los nitritos y el nivel de proteínas en las lágrimas,<sup>8,9</sup> y también se ha aplicado en parches de sudor.<sup>5</sup>

Para casos de baja concentración de analitos son mejores otras tecnologías de detección óptica, como la sonda de detección de fluorescencia, que puede mejorar la sensibilidad y selectividad hacia los biomarcadores.

## Detección electroquímica

La detección electroquímica de biomarcadores es una de las más usadas. De hecho, existen muchos estudios en los que se han utilizado dispositivos ponibles para la detección y análisis de diversas señales bioquímicas mediante diferentes métodos electroquímicos. Las sustancias bioquímicas de interés que se pueden detectar mediante este método son los iones  $\text{Na}^+$ <sup>15-17</sup> y  $\text{K}^+$ <sup>16,18</sup>, el pH<sup>16,17</sup>, la glucosa<sup>4,19-27</sup>, el lactato<sup>16,17,25,28</sup>, el nivel de cortisol<sup>29</sup>, y algunos medicamentos<sup>3</sup>. Cada tipo de sustancia de interés requiere diferentes enfoques para su detección.

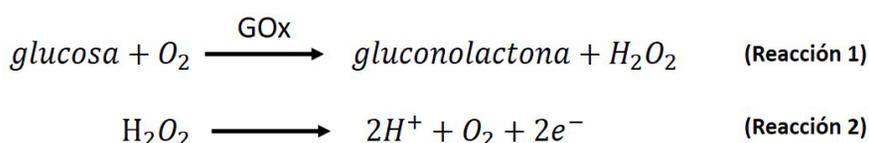
Por un lado, los electrodos potenciométricos con membranas selectivas de iones son adecuados para electrolitos como el  $\text{Na}^+$  o el  $\text{K}^+$  y también para el pH. Por otro lado, la oxidación enzimática con un electrodo recubierto de mediador redox acoplada a un detector amperométrico es adecuada para la detección de lactato y glucosa (**Figura 2 A-B**).

En este apartado nos centraremos en la segunda opción mencionada. Para el caso de la glucosa, por ejemplo, la glucosa oxidasa (GOx) es la enzima adecuada para catalizar la oxidación de la glucosa con la consecuente producción de peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y gluconolactona (**reacción 1**).

El peróxido es después oxidado, lo que genera una corriente de electrones (**reacción 2**).

La corriente de salida producida durante la catálisis por GOx se puede detectar mediante amperometría y la señal se puede transferir a través de un módulo inalámbrico para su posterior análisis en una computadora. La GOx se puede inmovilizar con poli(MPC-co-EHMA)<sup>22</sup> o poli(MPC-co-EHMA-co-MBP)(PMEHB).<sup>20</sup> Un ejemplo de esta aplicación para la detección de glucosa es el trabajo de Jina *et al.* quienes utilizaron electrodos de Pt-C cubiertos con albúmina sérica bovina reticulada que contenía GOx.<sup>4</sup> Estos dispositivos se pueden usar para detectar lactato simplemente cambiando la enzima GOx por la enzima lactato oxidasa (LOx).

El azul de Prusia (PB) es un compuesto que puede ser adicionado al método mencionado para el reconocimiento selectivo del peróxido formado y se aplica ampliamente en diversos análisis cuantitativos basados en enzimas oxidasas. En consecuencia, el nivel de glucosa o de lactato se puede medir mediante sus enzimas específicas (GOx o LOx) en cooperación con PB.<sup>14,16,24,28,30</sup> Además del uso de PB como mejorador de la detección, se han desarrollado también detectores amperométricos acoplados a actuadores electrotermostáticos (ACET). Un actuador electrotermostático es un dispositivo que cambia de posición dependiendo de la temperatura y la corriente eléctrica. En el presente caso, se usa para forzar el movimiento de los fluidos. El grupo de Lin *et al.* usó esta mejora adicional en parches cutáneos para la detección de glucosa en el sudor y encontraron una reducción en los tiempos de detección y una mejora en la sensibilidad de la detección.<sup>26</sup>

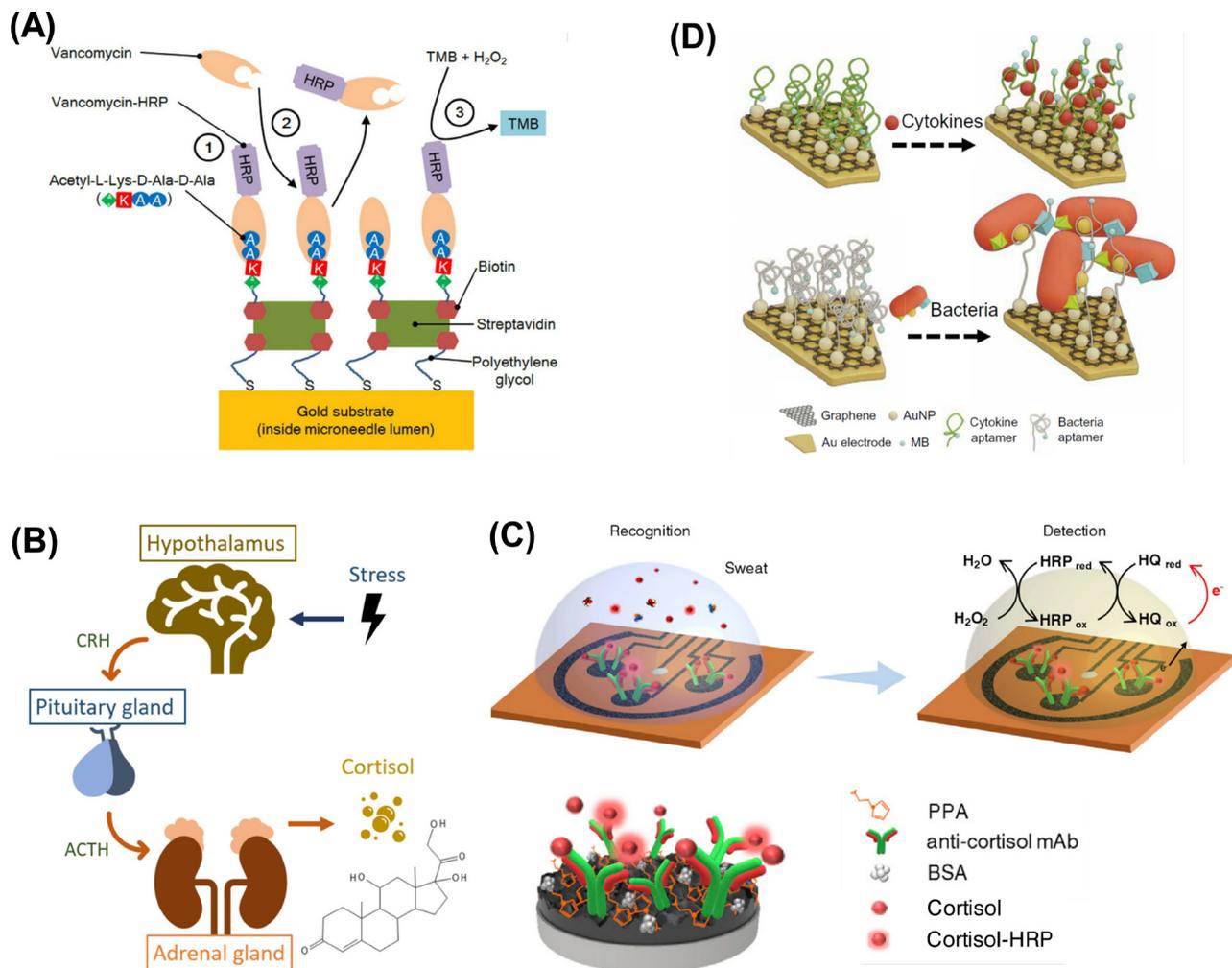


**Figura 2.** Detección electroquímica en dispositivos ponibles. (A) Principio básico de detección electroquímica mediante diferentes capas: en la parte de arriba se detecta el biomarcador que gracias a una enzima específica es oxidado con la formación de peróxido de hidrógeno; una membrana selectiva permite el paso de este producto que experimenta una nueva reacción redox cuyo potencial eléctrico es detectado por la capa inferior, que tiene los electrodos adecuados. Imagen adaptada de Lin, H. *et al.* A Programmable Epidermal Microfluidic Valving System for Wearable Biofluid Management and Contextual Biomarker Analysis. *Nat Commun* 2020, 11 (1), 4405. (CC BY 4.0) (B) Secuencias específicas de detección de glucosa y lactato mediante interacción electroquímica con las enzimas específicas: GOx para glucosa y LOx para lactato. En los dibujos se incluye al azul de Prusia, PB (Prussian Blue) en una de las capas pues su presencia mejora el comportamiento redox del proceso. Adaptado de Martín, A. *et al.* Epidermal Microfluidic Electrochemical Detection System: Enhanced Sweat Sampling and Metabolite Detection. *ACS Sens.* 2017, 2 (12), 1860–1868. ©2017 American Chemical Society.

Para ampliar el rango lineal de respuesta (LRR) en la detección de lactato, Xuan *et al.* incorporaron membranas limitadoras de difusión en la capa exterior de un electrodo de azul de Prusia con la lactato oxidasa (PB-LOx) que se plastificó y recubrió con PVC y otras sustancias. Se compararon 30 membranas de PVC diferentes y se eligió una con un 3% en peso de una sal de amonio cuaternario conocida como ETH500 que permitió obtener un LRR más amplio (de 1 a 50 mM), un tiempo de respuesta inferior a 5s y una respuesta reproducible con baja interferencia del pH y la temperatura.

Este gran resultado se debió a que las capas limitadoras de difusión modularon el flujo de lactato.

El método electroquímico ha sido usado también para la detección a tiempo real de medicamentos como la vancomicina en el líquido intersticial. Ese es el caso del dispositivo de Ranamukhaarachchi *et al.*<sup>3</sup>, quienes usaron una microaguja funcionalizada para llegar a este líquido bajo la piel (véase **figura 3A**). La funcionalización de la aguja se dio en varios pasos: primero se doró la microaguja y sobre el oro



**Figura 3.** Ejemplos de aplicación de biosensores para la detección de hormonas, fármacos y microbios. **(A)** Método de detección de vancomicina mediante la competencia por un péptido en la superficie de una microaguja funcionalizada. En el sustrato de oro se han fijado unos péptidos que se unen fuertemente a la vancomicina (ver texto principal). A su vez, esta vancomicina fijada se une a la enzima específica HRP (peroxidasa de rábano). Cuando existe vancomicina en el fluido a analizar este fármaco compete por el péptido, lo que produce su detección por cambios de corriente. Adaptado de Ranamukhaarachchi, S. A.; Padeste, C.; Dübner, M.; Häfeli, U. O.; Stoeber, B.; Cadarso, V. J. *Integrated Hollow Microneedle-Optofluidic Biosensor for Therapeutic Drug Monitoring in Sub-Nanoliter Volumes. Sci Rep* **2016**, *6* (1), 29075. (CC BY 4.0) **(B)** esquema de la generación de cortisol como respuesta al estrés. **(C)** Proceso de detección electroquímica de cortisol debido a la competencia entre el cortisol de una muestra y el cortisol etiquetado con HRP fijado a una plataforma de grafeno mediante el anticuerpo anticortisol. Adaptado de Torrente-Rodríguez, R. M.; Tu, J.; Yang, Y.; Min, J.; Wang, M.; Song, Y.; Yu, Y.; Xu, C.; Ye, C.; IsHak, W. W.; Gao, W. *Investigation of Cortisol Dynamics in Human Sweat Using a Graphene-Based Wireless MHealth System. Matter* **2020**, *2* (4), 921–937. (CC BY) **(D)** Plataforma electroquímica para parche de sudor. Esta plataforma consiste en una lámina de grafeno sobre otra de oro que permite la detección de mediadores inflamatorios en el entorno de una herida mediante aptámeros específicos de cada analito. Imagen adaptada de Gao, Y. *et al. A Flexible Multiplexed Immunosensor for Point-of-Care in Situ Wound Monitoring. Sci Adv* **2021**, *7* (21), eabg9614 (CC BY 4.0).

se colocó una monocapa autoensamblada de estreptavidina y biotina con el fin de obtener el nivel máximo de estreptavidina necesario para la inmovilización de los péptidos específicos de la vancomicina. Una vez inmovilizados los péptidos específicos sobre la monocapa se adicionó vancomicina funcionalizada con peroxidasa de rábano (HRP). De este modo, cuando la vancomicina de la muestra llega a la microaguja compete por los sitios del péptido y desplaza a la vancomicina combinada a HRP, lo cual se puede detectar mediante ensayos usando TMB (3,3', 5,5'-tetramethylbenzidina) como sustrato, y cuantificar mediante ensayos de optofluídica<sup>3</sup> (**Figura 3A**).

Para medir el nivel hormonal de cortisol en el sudor, por ejemplo, se puede aplicar una idea similar. El interés del cortisol radica en que es una hormona que se libera en respuesta al estrés o en caso de baja concentración de glucosa en sangre. (**Figura 3B**). Es por eso que su detección es importante y ha sido el objetivo de varios dispositivos ponibles. La propuesta de Torrente-Rodríguez *et al.* (**Figura 3C**) consistió en usar una plataforma amperométrica de detección de estrés basada en grafeno recubierta con el anticuerpo anticortisol marcado con HRP que reconoce específicamente al cortisol. Como en el caso descrito antes, la detección se da por la reacción de competitiva entre el cortisol de la muestra y el cortisol marcado con HRP. En este último caso, se puede usar espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) para medir la respuesta del detector. Más adelante (punto **3. Nivel de hormonas y biomarcadores**) se mencionarán otras alternativas para medir cortisol.

## APLICACIONES EN EL ESTUDIO DE BIOFLUIDOS

### Análisis del líquido intersticial

El líquido intersticial es una valiosa fuente de biofluidos para la medición continua usando dispositivos ponibles.<sup>31-33</sup> Este fluido corporal, que rodea las células y llena el espacio extracelular entre los tejidos, constituye el ambiente interno del cuerpo y comprende del 15 al 25% del peso corporal. Los nutrientes y productos secundarios presentes en este fluido provienen tanto de las células como del suero sanguíneo, lo que convierte este líquido en una fuente única de biomarcadores que puede proporcionar información sistémica de una persona. Durante las últimas décadas, por ejemplo, el estudio del contenido de este líquido ha sido usado como muestra para la detección continua de enfermedades crónicas, fallas de órganos y para la detección de la eficacia de los fármacos<sup>34</sup>. Por esta razón, se han desarrollado dispositivos ponibles que tienen acceso a este líquido directamente debajo de la piel con el fin de estudiar sus cambios. Para realizar análisis de este tipo se usan dispositivos ponibles con microagujas que penetran bajo la

piel a través del estrato córneo sin afectar a los nervios en las regiones dérmicas, de tal manera que puedan extraer y transportar el biofluido al sistema de detección.

Un ejemplo de este tipo de dispositivos es el mencionado previamente de Ranamukhaarachchi *et al.* (**figura 3A**), quienes lo aplicaron para detectar vancomicina extrayendo volúmenes muy pequeños (aproximadamente 0,6 nL) de líquido intersticial<sup>3</sup>. Pero ese no es el único ejemplo. Jina *et al.*<sup>4</sup> han desarrollado otra matriz de microagujas que se colocan en la epidermis sin dañar los vasos sanguíneos, para la monitorización continua (por un máximo de 72h) de glucosa. Sus microagujas están formadas por electrodos de trabajo de platino-carbono cubiertos con albúmina sérica bovina reticulada que contiene GOx. De este modo la glucosa se mide por una reacción de oxidación continua en el gradiente de concentración que existe entre la fuente del líquido y el detector de la microaguja. El cambio de corriente que ocurre en el electrodo fijo de la glucosa oxidasa es determinado por el método amperométrico. Este método, que es mínimamente invasivo, pudo medir con éxito el nivel de glucosa con resultados similares a los del glucómetro de sangre comercial.

Otra forma para la detección química en tiempo real con biosensores es el método de la iontoforesis inversa (RI, de *reverse iontoforesis*). Este método consiste en generar la extracción de iones del tejido subcutáneo mediante la aplicación de un potencial eléctrico en la superficie. El flujo de iones que se genera hacia la superficie arrastra moléculas neutras como la glucosa que luego son analizadas. Este método lo aplicaron Chen *et al.* mediante un parche especial para muestrear, y analizar de manera simultánea, la glucosa del líquido intersticial.<sup>19</sup> En su diseño, el grupo usó una batería de papel con biosensores mejorados que consistían en una película delgada de oro sobre la cual se depositó un film de PB de espesor nanométrico y, posteriormente, una capa enzimática con GOx. Antes de colocar el parche, se debe cubrir la superficie de la piel con una solución de ácido hialurónico para que este ingrese al líquido intersticial a la vez que sale la glucosa. De este modo, se logró una respuesta rápida a la corriente eléctrica aplicada, una buena extracción de glucosa del líquido intersticial y mayor estabilidad y menor resistencia a la difusión de los bioanalitos que otros métodos similares.

### Análisis de la saliva

La saliva es un líquido secretado por las glándulas salivales cuyos componentes se difunden desde la sangre por lo que incluyen electrolitos, células, enzimas, hormonas, metabolitos y agentes antimicrobianos, que se pueden usar como biomarcadores específicos e informativos para el diagnóstico de enfermedades sin necesidad de extraer

sangre.<sup>35-37</sup> El uso de saliva proporciona ventajas prácticas en cuanto a que puede ser rápidamente recolectada, siempre hay un gran volumen disponible y tiene un flujo continuo, lo que es ideal para mediciones confiables.<sup>38,39</sup> A continuación se mencionarán algunas propuestas para la detección de sus diferentes analitos.

Para la glucosa, por ejemplo, Arakawa *et al.* desarrollaron un protector bucal usando una membrana enzimática con GOx y PMEHB que detecta la glucosa mediante un método amperométrico<sup>20</sup> (**Figura 1A**). Lee *et al.*, por otro lado, desarrollaron una plataforma electrónica ultrafina y flexible para poner en la cavidad bucal que contenía sensores miniaturizados para la medición de la ingesta de sodio con monitoreo en tiempo real a través de telemetría bluetooth. La base del dispositivo es una capa polimérica cubierta con una membrana de cobre en forma de malla de 500 nm y una capa superior con un sensor potenciométrico microestructurado selectivo de iones sodio que se adapta cómodamente a la cavidad bucal.<sup>15</sup> Dado que este tipo de dispositivos serían difíciles de implantar en un bebé, García-Carmona *et al.*<sup>21</sup> integraron un detector similar en un chupete (**Figura 1B**) con el fin de analizar glucosa. Estos investigadores utilizaron dispositivos electrónicos inalámbricos y sensores electroquímicos de metabolitos para bombear líquido salival a la plataforma de detección. La plataforma de medida de saliva usó el monitoreo amperométrico en tiempo real de glucosa basado en GOx combinado con PB descrito en el apartado **Detección electroquímica** de este artículo.

## Análisis de las lágrimas

Las glándulas lagrimales secretan lágrimas con dos fines principales: para lubricar los ojos y para que se genere una capa protectora que permita eliminar sustancias irritantes, lo cual, a su vez, ayuda al sistema inmunológico. El análisis del biofluido lagrimal es de interés porque contiene un nivel relativamente alto de biomarcadores que se difunden directamente desde la sangre y su concentración está más estrechamente correlacionada con la sangre que la de otros biofluidos.<sup>22</sup> Para poder monitorear continuamente y en tiempo real la condición fisiológica de una persona a través de las lágrimas, se han desarrollado dispositivos ponibles basados en lentes de contacto integradas con un sistema de microfluidos. Los desafíos de estos diseños son la rápida evaporación de las lágrimas y el pequeño volumen de muestra disponible, especialmente para personas con menos lágrimas (como aquellas que padecen el síndrome de los ojos secos o síndrome de Sjögren).

Uno de estos dispositivos fue desarrollado por Kim *et al.*, usando lentes de contacto multifuncionales para la detección electroquímica de glucosa y la presión intraocular

(PIO).<sup>23</sup> El dispositivo integró una estructura híbrida de nanocables de grafeno y plata (AgNW) en lentes de contacto blandas que mantuvieron una alta transparencia (>91%) y alta capacidad de estiramiento (~25%). Para determinar la glucosa se usó el sistema de detección basado en la enzima GOx. La detección de la PIO se basó en el hecho de que un aumento de la PIO cambia el radio de curvatura de la córnea, lo que conduce a un cambio en la posición relativa del circuito. El cambio de posición del circuito induce un efecto de antena y un cambio de frecuencia de su señal, que es adecuado para la determinación de la PIO mediante detección inalámbrica.

Otros ejemplos basados en lentes de contacto permiten, con un diseño adecuado, la detección no solo de glucosa, sino también de iones cloruro y urea. Es el caso de Yang *et al.* quienes desarrollaron lentes de contacto flexibles y biocompatibles usando el polímero poli(citrato de dodecanodiol) metacrilado (mPDC).<sup>8</sup> Para alcanzar el objetivo, el dispositivo incorporó un sustrato químico distribuido en tres depósitos colorimétricos separados con entradas independientes para la detección de cloruros, glucosa y urea evitando la contaminación cruzada. Las lecturas de concentración se obtuvieron mediante un sistema de fotografía con análisis RGB de color incorporado en un *smartphone*.

El número de posibles biomarcadores a analizar depende de cómo se diseñe el dispositivo de medida. Por ejemplo, Moreddu *et al.* desarrollaron un sistema de microfluidos mediante ablación de lentes de contacto comerciales con un láser de CO<sub>2</sub> en las cuales crearon depósitos colorimétricos separados para la detección de glucosa, el nivel de proteínas, los iones nitrito y el nivel de ácido úrico, así como para determinar el pH y el volumen de lágrimas.<sup>9,13</sup> El resultado colorimétrico final se leyó usando un software basado en MATLAB con calibración de colores instalado en un *smartphone*.

Las lentes de contacto, sin embargo, no son la única forma de determinar biomarcadores en las lágrimas, también es posible hacerlo con dispositivos colocados en los párpados. Este es el caso del ponible conocido como NovioSense, que se coloca en el párpado inferior y permite medir glucosa en usuarios con diabetes<sup>27</sup>. La ubicación del dispositivo permite que el sensor mida continuamente y de forma estable el nivel de glucosa en el líquido lagrimal usando el método electroquímico basado en la enzima GOx mencionado en anteriores ocasiones. El sensor proporciona resultados que coinciden con el nivel de glucosa en sangre obtenido de mediciones de sangre con equipos comerciales. Para reducir el dolor y la sensación de irritación de los usuarios la superficie exterior del dispositivo estaba recubierta con polisacárido.

## Análisis de la orina

La orina es otro fluido corporal de interés para obtener información de salud y su monitoreo se puede hacer mediante pañales especiales. Un ejemplo ingenioso es el pañal diseñado por Zhang *et. al.*<sup>40</sup> para la detección de glucosa en pacientes diabéticos. Este pañal es impulsado por una celda de biocombustible enzimático (EBFC) la cual aprovecha la energía producida por la oxidación de la glucosa presente en la orina usando la enzima GOx. La energía almacenada produce el destello de un diodo LED incorporado al pañal, cuya frecuencia de destello es proporcional a la concentración de la glucosa en la orina.

## Análisis del sudor

El sudor es uno de los biofluidos de mayor interés ya que contiene numerosos biomarcadores importantes para el monitoreo de la salud. Tradicionalmente, el sudor se ha usado para medir el nivel de electrolitos<sup>41</sup> o el nivel de alcohol<sup>42</sup>, pero también se puede usar para diagnóstico clínico de la pérdida de minerales óseos<sup>43</sup>, fibrosis quística<sup>44</sup> y procesos de intoxicación<sup>45</sup>. No obstante, la lista de biomarcadores presentes y detectables en el sudor es muy larga e incluye agua<sup>5</sup>, glucosa<sup>5,14,24-26,48</sup>, lactato<sup>5,14,16,25,28,30</sup>, los iones Na<sup>+</sup><sup>16,49</sup>, K<sup>+</sup><sup>16,18</sup> y Cl<sup>-</sup><sup>5,47</sup>, así como colina<sup>26</sup>, niveles de hormonas<sup>29,50</sup> y levodopa<sup>47</sup>. También es posible medir el pH<sup>5,12,16,30,46,47</sup>, la presión<sup>6,7</sup> y la temperatura<sup>30</sup>. Entre las ventajas de estudiar el sudor se encuentra que su análisis puede hacerse de forma no invasiva y sin el uso de ponibles con microagujas como los mencionados anteriormente, lo cual es más fácil y seguro sobre todo para bebés y ancianos. Debido a la importancia y variedad de analitos, a continuación se mencionan diversos casos específicos para la detección de algunos de los biomarcadores más importantes.

### I. Glucosa y Lactato

Tal como se ha visto durante este artículo, la glucosa y el lactato son dos de los biomarcadores más analizados en los diferentes biofluidos y el sudor no es una excepción, pues también contiene estas sustancias. En este sentido, se han desarrollado dispositivos para medir de forma independiente cada biomarcador, pero también de forma combinada.

En lo que respecta a la detección independiente un dispositivo fácil y simple de fabricar para la detección de glucosa es el de Cao *et. al.*, quienes desarrollaron un parche multicapa basado en papel 3D (llamado 3D-PMED) donde se integró un sistema de detección electroquímica.<sup>24</sup> La glucosa de la muestra de sudor se midió a través de electrodos modificados con GOx y PB, especialmente diseñados para reducir los efectos causados por el ácido ascórbico y el ácido úrico presentes en el sudor.

Para la detección de lactato se mencionará el caso de Yokus *et al.*, quienes desarrollaron un parche de microfluidos que integraba un hidrogel con lactato oxidasa y un papel de filtro con bombeo osmótico-capilar. El parche detectó el nivel de lactato en la transpiración mediante medición electroquímica.<sup>28</sup>

La detección combinada de ambos biomarcadores ha sido conseguida por varios grupos, todos ellos mediante parches flexibles cuidadosamente diseñados. Un primer ejemplo del estudio de la cantidad de lactato y glucosa de manera simultánea fue desarrollado por Martin *et al.* quienes presentaron un parche de microfluidos para la recolección rápida de la transpiración cuyos biosensores estaban basados en la detección amperométrica usando las enzimas oxidasa y PB.<sup>14</sup> Otro grupo que ha desarrollado un dispositivo dual es el de Lin *et al.*, quienes prepararon una estructura de microfluidos tridimensional de bajo costo con interconexión vertical para la selección del tamaño de partículas con los que poder detectar glucosa y colina. Gracias al uso de una interfaz tipo sándwich con un actuador electrotérmico (ACET) redujeron el tiempo de respuesta en comparación con otros sensores similares.<sup>26</sup> Posteriormente, el grupo desarrolló un nuevo dispositivo ponible controlado por una válvula de hidrogel de respuesta térmica (que se puede activar/desactivar a través de un microcalentador) para la detección programable de glucosa y lactato.<sup>25</sup> El dispositivo se basa en un electrodo de oro recubierto con nanopartículas de platino (PtNP), una capa posterior del polímero poli-m-fenilendiamina (PPD) y luego la enzima de interés (LOx o GOx), dependiendo del biomarcador a analizar. El dispositivo incorporaba una placa de circuito impreso flexible para la transmisión inalámbrica de datos para un monitoreo eficiente.

## 2. El pH y los electrolitos

Hay muchos ejemplos de propuestas de dispositivos portátiles que tienen la capacidad de medir el pH del sudor. Los más simples utilizan indicadores comerciales junto con detectores  $\mu$ -LED de color<sup>12</sup>, mientras que otros más sofisticados utilizan sensores con chips silicio integrados con dispositivos microfluidicos.<sup>46</sup>

La detección de electrolitos está menos estandarizada que la de la medida del pH y distintos grupos de investigación han desarrollado diferentes prototipos. Para la detección de Na<sup>+</sup>, por ejemplo, Ma *et al.* desarrollaron un dispositivo rápido y fácil de fabricar compuesto de películas de PET e hilos conductores biocompatibles que usa absorción capilar para detectar los iones Na<sup>+</sup> mediante una membrana selectiva de este ion.<sup>49</sup> Para la detección de K<sup>+</sup>, por otro lado, Zhang *et. al.* han desarrollado un parche con un sensor electroquímico inalámbrico sin batería, que recoge el líquido del sudor mediante un complejo diseño de electrodos recubierto con

valinomicina, un antibiótico ampliamente selectivo del K<sup>+</sup>, que permite su monitorización *in situ*.<sup>18</sup>

### 3. Nivel de hormonas y otros biomarcadores

Como ya se mencionó anteriormente, la lista de biomarcadores en el sudor es enorme y para cada uno existen varias opciones de detección y cuantificación. A continuación, se mencionarán solo algunos casos concretos. Entre las hormonas de mayor interés se encuentra el cortisol, del que ya se escribió en el apartado de detección electroquímica (apartado **Detección Electroquímica**). La opción descrita páginas atrás consistía en una plataforma amperométrica de detección usando cortisol marcado con HRP (**Figura 3B-C**),<sup>50</sup> no obstante, dada su importancia, se han desarrollado otras alternativas de medición. Este es el caso de Lee *et al.*, quienes desarrollaron un biosensor en forma de parche flexible especialmente diseñado para deportistas, que opera bajo un simple toque.<sup>29</sup> El parche contiene cuatro cámaras de microfluidos con una válvula antirretorno que permite dirigir el flujo del sudor y que el usuario activa cada 15 minutos (tiempo mínimo que se requiere para incubar la cantidad suficiente de cortisol en cada cámara) para la detección inmediata de la hormona. La concentración de cortisol se determina mediante espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) usando un electrodo de oro nanoestructurado para aumentar la sensibilidad. Ambos diseños son igualmente válidos para detectar la producción diaria de esta hormona.

Dentro de este apartado se incluye también el dispositivo de Gao *et al.*<sup>51</sup>, quienes diseñaron un parche que monitorea los exudados en el entorno de una herida para determinar el estado de curación de la misma. Específicamente, el parche se diseñó para determinar la presencia de los mediadores inflamatorios como el factor  $\alpha$  de necrosis tumoral, la interleucina-6, la interleucina-8 y el factor de crecimiento transformante  $\beta$ 1, usando aptámeros específicos de cada analito (**Figuras 1C y 3D**). El caso de este parche es interesante porque no solo incorporaba diez sensores electroquímicos para los biomarcadores sino una completa plataforma inalámbrica vía bluetooth para el monitoreo del estado de la herida con computadora o mediante un teléfono inteligente.

### 4. Dispositivos integrados

Hasta el momento, los dispositivos mencionados se centran en la detección de uno o unos pocos analitos. Sin embargo, existen algunas propuestas para la detección de varios analitos del sudor al mismo tiempo o, al menos, con el mismo dispositivo. La **Tabla 1** contiene varios de estos ejemplos y la **figura 4** muestra detalles de algunos de ellos.

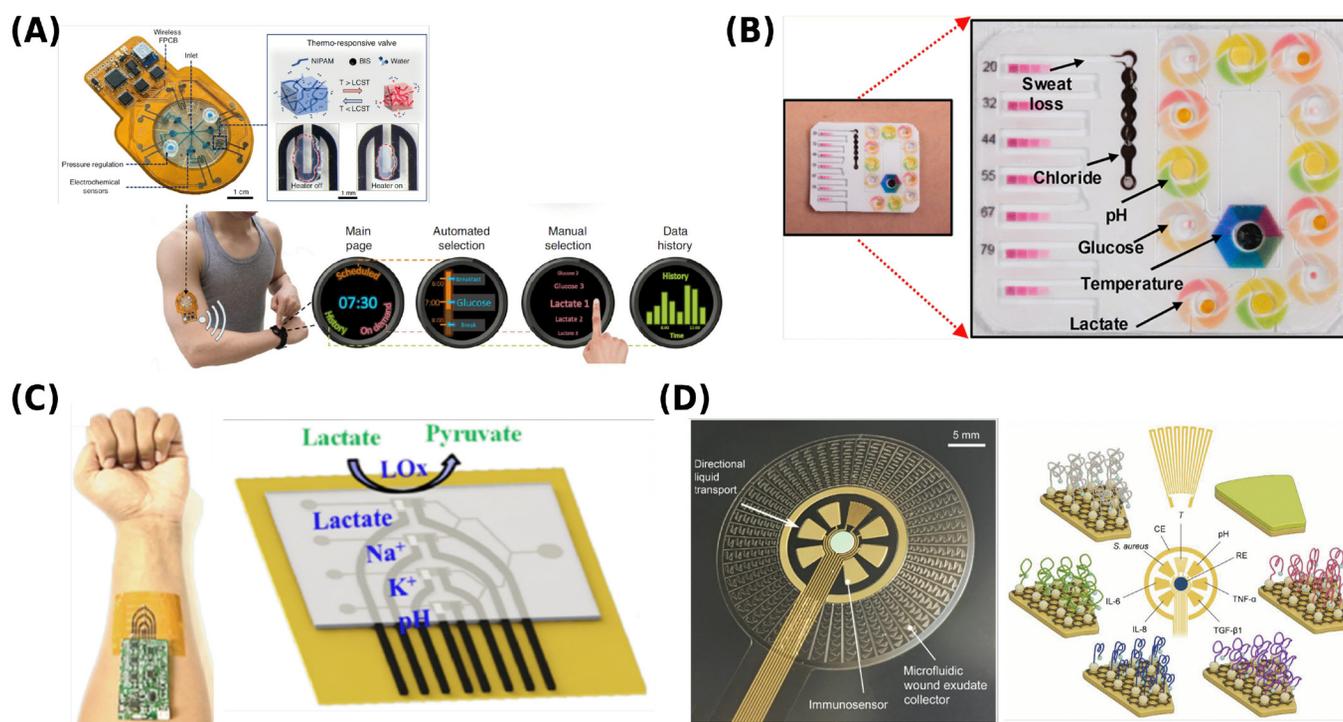
La mayoría de los dispositivos ponibles basados

en microfluidos presentados hasta ahora están diseñados para deportistas porque en reposo solemos tener una tasa lenta de sudoración que no es adecuada para la recolección y detección del sudor (aunque se puede mejorar mediante iontoforesis<sup>30,50</sup>). En consecuencia, los dispositivos de microfluidos para la detección del sudor generalmente requieren que los sujetos realicen ejercicio continuo, como andar en bicicleta, subir escaleras, estar en cintas andadoras u otras situaciones equivalentes.<sup>5-7,16-18,24,25,46</sup> Un gran desafío para estos dispositivos de análisis del sudor es el caso de los deportes acuáticos. No obstante, también hay propuestas para estos casos. Reeder *et al.*, por ejemplo, han diseñado un parche impermeable flexible que se coloca en la piel para monitorear en tiempo real la hidratación durante los deportes acuáticos.<sup>11</sup> El parche (**Figura 1D**) contiene un sistema de microfluidos compatible con la piel para medir la tasa de sudoración local y la concentración de iones cloruro mediante análisis colorimétrico. Este ponible, que ha demostrado operabilidad bajo el agua durante al menos 2 horas de intenso ejercicio, integra dispositivos electrónicos flexibles e impermeables que incluyen una antena magnética de espira, un componente NFC y una luz de notificación LED con el fin de transmitir la información a un *smartphone*.

**Tabla 1.** Ejemplos seleccionados de propuestas de dispositivos ponibles multifuncionales

Analitos de interés	Detalles del proceso de detección	Ref.
pH, glucosa, lactato e iones cloruro	Análisis colorimétrico (cuatro depósitos circulares que contienen reactivo de respuesta de color, incluida una mezcla de solución tampón GOx, ensayo de D-lactasa, ensayo de cloruro e indicador de pH)	5
Tasa de sudoración, pH, glucosa, temperatura, lactato e iones cloruro	Análisis colorimétrico. (véase también <b>Figura 4 B</b> )	10
Iones Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , lactato y pH	Nanotubos de carbono de pared simple funcionalizados con ácido carboxílico (SWCNT-COOH) acoplados con nanopartículas de PB para mejorar la actividad catalítica y la capacidad de detección. (véase también <b>Figura 4 C</b> )	16
pH, lactato y temperatura corporal	Se usan membranas limitadoras de difusión para dirigir el flujo de lactato hacia LOx lo que permite aumentar el rango de respuesta lineal (LRR) y la sensibilidad, con menor interferencia del pH y la temperatura. (Se mencionan más detalles en el apartado <b>Detección Electroquímica</b> )	30
Tasa de sudoración, pH, iones cloruro y levodopa	Detección electroquímica mediante películas poliméricas para una rápida absorción y transporte del sudor.	47
Entorno de una herida: pH, temperatura, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, TGF- $\beta$ 1, carga bacterial ( <i>Staphylococcus aureus</i> )	Detección electroquímica utilizando un electrodo basado en aptámeros específicos sobre una fina capa compuesta de nanopartículas de grafeno exfoliadas electroquímicamente y oro (AuNPs-GP). (véase también <b>Figuras 1 C y 4 D</b> )	51

\*TNF- $\alpha$ : factor- $\alpha$  de necrosis tumoral; IL-6: interleucina-6; IL-8: interleucina-8; TGF- $\beta$ 1: factor de crecimiento transformador- $\beta$ 1



**Figura 4.** Ejemplos de dispositivos ponibles para la detección múltiple de diferentes biomarcadores. **(A)** Parche programable, y controlable desde un reloj inteligente, construido con un sistema de válvulas multicanal que contienen el hidrogel PNIPAM, el cual se expande y contrae dependiendo de la temperatura del punto de medida, que es capaz de medir a la vez los niveles de lactato y glucosa presentes en el sudor (según los autores, puede adaptarse a más biomarcadores). Adaptado de Lin, H. *et al.* *A Programmable Epidermal Microfluidic Valving System for Wearable Biofluid Management and Contextual Biomarker Analysis.* *Nat Commun* **2020**, *11* (1), 4405. (CC-BY 4.0) **(B)** Plataforma colorimétrica integrada para el estudio de la pérdida de sudor, el pH, la glucosa, la temperatura, el lactato y los iones cloruro. Adaptado de Choi, J. *et al.* *Soft, Skin-Integrated Multifunctional Microfluidic Systems for Accurate Colorimetric Analysis of Sweat Biomarkers and Temperature.* *ACS Sens.* **2019**, *4* (2), 379–388. © 2019 American Chemical Society. **(C)** Parche con cuatro depósitos de respuesta electroquímica separados para la detección independiente, y sin contaminación, de lactato, pH y los iones sodio y potasio. El lactato se detecta con la enzima GOx ayudada por nanopartículas de PB, los iones Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> con la ayuda de ionóforos específicos y, finalmente, el pH se determina con la ayuda de nanotubos de carbono (SWCNT-COOH). Adaptado de Vinoth, R. *et al.* *Fully Printed Wearable Microfluidic Devices for High-Throughput Sweat Sampling and Multiplexed Electrochemical Analysis.* *ACS Sens.* **2021**, *6* (3), 1174–1186. © 2021 American Chemical Society. **(D)** Equipo integrado para el monitoreo de los diferentes biomarcadores presentes en el entorno de una herida; entre los biomarcadores detectados se encuentran el pH, el TNF- $\alpha$ , la IL-6 y IL-8, el TGF- $\beta$ 1, y la carga bacteriana (ver también Figura 1C). Imagen adaptada de Gao, Y. *et al.* *A Flexible Multiplexed Immunosensor for Point-of-Care in Situ Wound Monitoring.* *Sci Adv* **2021**, *7* (21), eabg9614 (CC BY 4.0) Abreviaturas: \* TNF- $\alpha$  : factor- $\alpha$  de necrosis tumoral; IL-6: interleucina-6; IL-8: interleucina-8; TGF- $\beta$ 1: factor de crecimiento transformador- $\beta$ 1

## CONCLUSIÓN

Esta breve reseña ha intentado mostrar que los dispositivos ponibles ofrecen la capacidad de monitorear y registrar instantáneamente datos de salud personales. El desarrollo de estos dispositivos, su gestión de la estabilidad y capacidad de medir de forma exacta y precisa importantes analitos de importancia bioquímica ejemplifican la importancia de la aplicación práctica de la química. No hay duda de que la integración de la química con otros sistemas promete abrir numerosas oportunidades y posibilidades en el ámbito de la atención sanitaria del futuro.

## REFERENCIAS

- An, H.; Chen, L.; Liu, X.; Zhao, B.; Zhang, H.; Wu, Z. *Microfluidic Contact Lenses for Unpowered, Continuous and Non-Invasive Intraocular Pressure Monitoring.* *Sensors and Actuators A: Physical* **2019**, *295*, 177–187.
- An, H.; Chen, L.; Liu, X.; Zhao, B.; Ma, D.; Wu, Z. *A Method of Manufacturing Microfluidic Contact Lenses by Using Irreversible Bonding and Thermoforming.* *J. Micromech. Microeng.* **2018**, *28* (10), 105008.
- Ranamukhaarachchi, S. A.; Padeste, C.; Dübner, M.; Häfeli, U. O.; Stoeber, B.; Cadarso, V. J. *Integrated Hollow Microneedle-Optofluidic Biosensor for Therapeutic Drug Monitoring in Sub-Nanoliter Volumes.* *Sci Rep* **2016**, *6* (1), 29075.

4. Jina, A.; Tierney, M. J.; Tamada, J. A.; McGill, S.; Desai, S.; Chua, B.; Chang, A.; Christensen, M. Design, Development, and Evaluation of a Novel Microneedle Array-Based Continuous Glucose Monitor. *J Diabetes Sci Technol* **2014**, *8* (3), 483–487.
5. Koh, A.; Kang, D.; Xue, Y.; Lee, S.; Pielak, R. M.; Kim, J.; Hwang, T.; Min, S.; Banks, A.; Bastien, P.; Manco, M. C.; Wang, L.; Ammann, K. R.; Jang, K.-I.; Won, P.; Han, S.; Ghaffari, R.; Paik, U.; Slepian, M. J.; Balooch, G.; Huang, Y.; Rogers, J. A. A Soft, Wearable Microfluidic Device for the Capture, Storage, and Colorimetric Sensing of Sweat. *Sci. Transl. Med.* **2016**, *8* (366).
6. Choi, J.; Xue, Y.; Xia, W.; Ray, T. R.; Reeder, J. T.; Bandodkar, A. J.; Kang, D.; Xu, S.; Huang, Y.; Rogers, J. A. Soft, Skin-Mounted Microfluidic Systems for Measuring Secretory Fluidic Pressures Generated at the Surface of the Skin by Eccrine Sweat Glands. *Lab Chip* **2017**, *17* (15), 2572–2580.
7. Choi, J.; Kang, D.; Han, S.; Kim, S. B.; Rogers, J. A. Thin, Soft, Skin-Mounted Microfluidic Networks with Capillary Bursting Valves for Chrono-Sampling of Sweat. *Advanced Healthcare Materials* **2017**, *6* (5), 1601355.
8. Yang, X.; Yao, H.; Zhao, G.; Ameer, G. A.; Sun, W.; Yang, J.; Mi, S. Flexible, Wearable Microfluidic Contact Lens with Capillary Networks for Tear Diagnostics. *J Mater Sci* **2020**, *55* (22), 9551–9561.
9. Moreddu, R.; Wolffsohn, J. S.; Vigolo, D.; Yetisen, A. K. Laser-Inscribed Contact Lens Sensors for the Detection of Analytes in the Tear Fluid. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2020**, *317*, 128183.
10. Choi, J.; Bandodkar, A. J.; Reeder, J. T.; Ray, T. R.; Turnquist, A.; Kim, S. B.; Nyberg, N.; Hourlier-Fargette, A.; Model, J. B.; Aranyosi, A. J.; Xu, S.; Ghaffari, R.; Rogers, J. A. Soft, Skin-Integrated Multifunctional Microfluidic Systems for Accurate Colorimetric Analysis of Sweat Biomarkers and Temperature. *ACS Sens.* **2019**, *4* (2), 379–388.
11. Reeder, J. T.; Choi, J.; Xue, Y.; Gutruf, P.; Hanson, J.; Liu, M.; Ray, T.; Bandodkar, A. J.; Avila, R.; Xia, W.; Krishnan, S.; Xu, S.; Barnes, K.; Pahnke, M.; Ghaffari, R.; Huang, Y.; Rogers, J. A. Waterproof, Electronics-Enabled, Epidermal Microfluidic Devices for Sweat Collection, Biomarker Analysis, and Thermography in Aquatic Settings. *Sci. Adv.* **2019**, *5* (1), eaau6356.
12. Benito-Lopez, F.; Coyle, S.; Byrne, R.; Smeaton, A.; O'Connor, N. E.; Diamond, D. Pump Less Wearable Microfluidic Device for Real Time PH Sweat Monitoring. *Procedia Chemistry* **2009**, *1* (1), 1103–1106.
13. Moreddu, R.; Nasrollahi, V.; Kassanos, P.; Dimov, S.; Vigolo, D.; Yetisen, A. K. Lab-on-a-Contact Lens Platforms Fabricated by Multi-Axis Femtosecond Laser Ablation. *Small* **2021**, *17* (38), 2102008.
14. Martín, A.; Kim, J.; Kurniawan, J. F.; Sempionatto, J. R.; Moreto, J. R.; Tang, G.; Campbell, A. S.; Shin, A.; Lee, M. Y.; Liu, X.; Wang, J. Epidermal Microfluidic Electrochemical Detection System: Enhanced Sweat Sampling and Metabolite Detection. *ACS Sens.* **2017**, *2* (12), 1860–1868.
15. Lee, Y.; Howe, C.; Mishra, S.; Lee, D. S.; Mahmood, M.; Piper, M.; Kim, Y.; Tieu, K.; Byun, H.-S.; Coffey, J. P.; Shayan, M.; Chun, Y.; Costanzo, R. M.; Yeo, W.-H. Wireless, Intraoral Hybrid Electronics for Real-Time Quantification of Sodium Intake toward Hypertension Management. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2018**, *115* (21), 5377–5382.
16. Vinoth, R.; Nakagawa, T.; Mathiyarasu, J.; Mohan, A. M. V. Fully Printed Wearable Microfluidic Devices for High-Throughput Sweat Sampling and Multiplexed Electrochemical Analysis. *ACS Sens.* **2021**, *6* (3), 1174–1186.
17. Anastasova, S.; Crewther, B.; Bembnowicz, P.; Curto, V.; Ip, H. M.; Rosa, B.; Yang, G.-Z. A Wearable Multisensing Patch for Continuous Sweat Monitoring. *Biosensors and Bioelectronics* **2017**, *93*, 139–145.
18. Zhang, S.; Zahed, M. A.; Sharifuzzaman, Md.; Yoon, S.; Hui, X.; Chandra Barman, S.; Sharma, S.; Yoon, H. S.; Park, C.; Park, J. Y. A Wearable Battery-Free Wireless and Skin-Interfaced Microfluidics Integrated Electrochemical Sensing Patch for on-Site Biomarkers Monitoring in Human Perspiration. *Biosensors and Bioelectronics* **2021**, *175*, 112844.
19. Chen, Y.; Lu, S.; Zhang, S.; Li, Y.; Qu, Z.; Chen, Y.; Lu, B.; Wang, X.; Feng, X. Skin-like Biosensor System via Electrochemical Channels for Noninvasive Blood Glucose Monitoring. *Sci Adv* **2017**, *3* (12), e1701629.
20. Arakawa, T.; Tomoto, K.; Nitta, H.; Toma, K.; Takeuchi, S.; Sekita, T.; Minakuchi, S.; Mitsubayashi, K. A Wearable Cellulose Acetate-Coated Mouthguard Biosensor for In Vivo Salivary Glucose Measurement. *Anal. Chem.* **2020**, *92* (18), 12201–12207.
21. García-Carmona, L.; Martín, A.; Sempionatto, J. R.; Moreto, J. R.; González, M. C.; Wang, J.; Escarpa, A. Pacifier Biosensor: Toward Noninvasive Saliva Biomarker Monitoring. *Anal. Chem.* **2019**, *91* (21), 13883–13891.
22. Pankratov, D.; González-Arribas, E.; Blum, Z.; Shleev, S. Tear Based Bioelectronics. *Electroanalysis* **2016**, *28* (6), 1250–1266.
23. Kim, J.; Kim, M.; Lee, M.-S.; Kim, K.; Ji, S.; Kim, Y.-T.; Park, J.; Na, K.; Bae, K.-H.; Kyun Kim, H.; Bien, F.; Young Lee, C.; Park, J.-U. Wearable Smart Sensor Systems Integrated on Soft Contact Lenses for Wireless Ocular Diagnostics. *Nat Commun* **2017**, *8* (1), 14997.
24. Cao, Q.; Liang, B.; Tu, T.; Wei, J.; Fang, L.; Ye, X. Three-Dimensional Paper-Based Microfluidic Electrochemical Integrated Devices (3D-PMED) for Wearable Electrochemical Glucose Detection. *RSC Adv.* **2019**, *9* (10), 5674–5681.
25. Lin, H.; Tan, J.; Zhu, J.; Lin, S.; Zhao, Y.; Yu, W.; Hojajji, H.; Wang, B.; Yang, S.; Cheng, X.; Wang, Z.; Tang, E.; Yeung, C.; Emaminejad, S. A Programmable Epidermal Microfluidic Valving System for Wearable Biofluid Management and Contextual Biomarker Analysis. *Nat Commun* **2020**, *11* (1), 4405.
26. Lin, H.; Zhao, Y.; Lin, S.; Wang, B.; Yeung, C.; Cheng, X.; Wang, Z.; Cai, T.; Yu, W.; King, K.; Tan, J.; Salah, K.; Hojajji, H.; Emaminejad, S. A Rapid and Low-Cost Fabrication and Integration Scheme to Render 3D Microfluidic Architectures for Wearable Biofluid Sampling, Manipulation, and Sensing. *Lab Chip* **2019**, *19* (17), 2844–2853.
27. Kownacka, A. E.; Vegelyte, D.; Joosse, M.; Anton, N.; Toebes, B. J.; Lauko, J.; Buzzacchera, I.; Lipinska, K.; Wilson, D. A.; Geelhoed-Duijvestijn, N.; Wilson, C. J. Clinical Evidence for Use of a Noninvasive Biosensor for Tear Glucose as an Alternative to Painful Finger-Prick for Diabetes Management Utilizing a Biopolymer Coating. *Biomacromolecules* **2018**, *19* (11), 4504–4511.
28. Yokus, M. A.; Saha, T.; Fang, J.; Dickey, M. D.; Velev, O. D.; Daniele, M. A. Towards Wearable Electrochemical Lactate Sensing Using Osmotic-Capillary Microfluidic Pumping. In *2019 IEEE SENSORS*; 2019; pp 1–4.
29. Lee, H.-B.; Meeseepong, M.; Trung, T. Q.; Kim, B.-Y.; Lee, N.-E. A Wearable Lab-on-a-Patch Platform with Stretchable Nanostructured Biosensor for Non-Invasive Immunodetection of Biomarker in Sweat. *Biosensors and Bioelectronics* **2020**, *156*, 112133.
30. Xuan, X.; Pérez-Ràfols, C.; Chen, C.; Cuartero, M.; Crespo, G. A. Lactate Biosensing for Reliable On-Body Sweat Analysis. *ACS Sens.* **2021**, *6* (7), 2763–2771.
31. Lee, H.; Hong, Y. J.; Baik, S.; Hyeon, T.; Kim, D.-H. Enzyme-Based Glucose Sensor: From Invasive to Wearable Device. *Advanced Healthcare Materials* **2018**, *7* (8), 1701150.
32. Madden, J.; O'Mahony, C.; Thompson, M.; O'Riordan, A.; Galvin, P. Biosensing in Dermal Interstitial Fluid Using Microneedle Based Electrochemical Devices. *Sensing and Bio-Sensing Research* **2020**, *29*, 100348.

33. Samant, P. P.; Prausnitz, M. R. Mechanisms of Sampling Interstitial Fluid from Skin Using a Microneedle Patch. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2018**, *115* (18), 4583–4588.
34. Promphet, N.; Ummartyotin, S.; Ngeontae, W.; Puthongkham, P.; Rodthongkum, N. Non-Invasive Wearable Chemical Sensors in Real-Life Applications. *Analytica Chimica Acta* **2021**, *1179*, 338643.
35. Bosch, J. A. The Use of Saliva Markers in Psychobiology: Mechanisms and Methods. In *Monographs in Oral Science*; Ligtenberg, A. J. M., Veerman, E. C. I., Eds.; S. Karger AG, 2014; Vol. 24, pp 99–108.
36. Lee, Y.-H.; Wong, D. T. Saliva: An Emerging Biofluid for Early Detection of Diseases. *Am J Dent* **2009**, *22* (4), 241–248.
37. Kaufman, E.; Lamster, I. B. The Diagnostic Applications of Saliva—A Review. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* **2002**, *13* (2), 197–212.
38. Wang, A.; Wang, C. P.; Tu, M.; Wong, D. T. W. Oral Biofluid Biomarker Research: Current Status and Emerging Frontiers. *Diagnostics (Basel)* **2016**, *6* (4), 45.
39. Zhang, C.-Z.; Cheng, X.-Q.; Li, J.-Y.; Zhang, P.; Yi, P.; Xu, X.; Zhou, X.-D. Saliva in the Diagnosis of Diseases. *Int J Oral Sci* **2016**, *8* (3), 133–137.
40. Zhang, J.; Liu, J.; Su, H.; Sun, F.; Lu, Z.; Su, A. A Wearable Self-Powered Biosensor System Integrated with Diaper for Detecting the Urine Glucose of Diabetic Patients. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2021**, *341*, 130046.
41. Pilardeau, P.; Vaysse, J.; Garnier, M.; Joublin, M.; Valeri, L. Secretion of Eccrine Sweat Glands during Exercise. *British Journal of Sports Medicine* **1979**, *13* (3), 118–121.
42. Gamella, M.; Campuzano, S.; Manso, J.; Rivera, G. G. de; López-Colino, F.; Revejo, A. J.; Pingarrón, J. M. A Novel Non-Invasive Electrochemical Biosensing Device for in Situ Determination of the Alcohol Content in Blood by Monitoring Ethanol in Sweat. *Analytica Chimica Acta* **2014**, *806*, 1–7.
43. Klesges, R. C. Changes in Bone Mineral Content in Male Athletes. Mechanisms of Action and Intervention Effects. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* **1996**, *276* (3), 226–230.
44. Ray, T. R.; Ivanovic, M.; Curtis, P. M.; Franklin, D.; Guventurk, K.; Jeang, W. J.; Chafetz, J.; Gaertner, H.; Young, G.; Rebollo, S.; Model, J. B.; Lee, S. P.; Ciraldo, J.; Reeder, J. T.; Hourlier-Fargette, A.; Bandodkar, A. J.; Choi, J.; Aranyosi, A. J.; Ghaffari, R.; McColley, S. A.; Haymond, S.; Rogers, J. A. Soft, Skin-Interfaced Sweat Stickers for Cystic Fibrosis Diagnosis and Management. *Sci. Transl. Med.* **2021**, *13* (587), eabd8109.
45. Burns, M.; Baselt, R. C. Monitoring Drug Use with a Sweat Patch: An Experiment with Cocaine\*. *Journal of Analytical Toxicology* **1995**, *19* (1), 41–48.
46. Nie, C.; Frijns, A.; Zevenbergen, M.; Toonder, J. den. An Integrated Flex-Microfluidic-Si Chip Device towards Sweat Sensing Applications. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, *227*, 427–437.
47. Nyein, H. Y. Y.; Bariya, M.; Tran, B.; Ahn, C. H.; Brown, B. J.; Ji, W.; Davis, N.; Javey, A. A Wearable Patch for Continuous Analysis of Thermoregulatory Sweat at Rest. *Nat Commun* **2021**, *12* (1), 1823.
48. Shay, T.; Dickey, M. D.; Velev, O. D. Hydrogel-Enabled Osmotic Pumping for Microfluidics: Towards Wearable Human-Device Interfaces. *Lab Chip* **2017**, *17* (4), 710–716.
49. Ma, B.; Chi, J.; Xu, C.; Ni, Y.; Zhao, C.; Liu, H. Wearable Capillary Microfluidics for Continuous Perspiration Sensing. *Talanta* **2020**, *212*, 120786.
50. Torrente-Rodríguez, R. M.; Tu, J.; Yang, Y.; Min, J.; Wang, M.; Song, Y.; Yu, Y.; Xu, C.; Ye, C.; IsHak, W. W.; Gao, W. Investigation of Cortisol Dynamics in Human Sweat Using a Graphene-Based Wireless MHealth System. *Matter* **2020**, *2* (4), 921–937.
51. Gao, Y.; Nguyen, D. T.; Yeo, T.; Lim, S. B.; Tan, W. X.; Madden, L. E.; Jin, L.; Long, J. Y. K.; Aloweni, F. A. B.; Liew, Y. J. A.; Tan, M. L. L.; Ang, S. Y.; Maniya, S. D.; Abdelwahab, I.; Loh, K. P.; Chen, C.-H.; Becker, D. L.; Leavesley, D.; Ho, J. S.; Lim, C. T. A Flexible Multiplexed Immunosensor for Point-of-Care in Situ Wound Monitoring. *Sci Adv* **2021**, *7* (21), eabg9614.

## BIBLIOGRAFÍA ESENCIAL

Lin, P.H.; Nien, H.H.; Li, B.R. **Wearable Microfluidics for Continuous Assay.** *Annu Rev Anal Chem.* **2023**, *16*(1) 181-203.

Wang, M., Yang, Y., Min, J., Song, Y., Tu, J., Mukasa, D.; Ye, C.; Xu, C.; Heflin, N.; McCune, J.S.; Hsiai, T.K.; Li, Z.; Gao, W. **A wearable electrochemical biosensor for the monitoring of metabolites and nutrients.** *Nat. Biomed. Eng* **2022** *6*, 1225–1235.

Sempionatto, J.R.; Lasalde-Ramírez, J.A.; Mahato, K.; Wang, J.; Gao, W. **Wearable chemical sensors for biomarker discovery in the omics era.** *Nat Rev Chem* **2022** *6*, 899–915.