

GRAFENO, EL MATERIAL DEL FUTURO Y SUS APLICACIONES MÉDICAS

Hebel José Solano Muñoz¹

Clínica Ricardo Jiménez Núñez CCSS, Área de salud Goicoechea 2

Recibido octubre 2015; aceptado diciembre 2015

Abstract

During decades, countless experiments conducted on the XX century attempted to create a viable and usable sample of 2D allotrope of carbon: graphene. However it was considered too unstable and impossible to obtain through physical methods. Even though the theoretical capabilities of the material were outstanding, all attempts failed and its destiny seemed to be nothing but descriptions and theories in books. Until in 2004, scientists of the University of Manchester in England developed a method to obtain stable and functional graphene, a discovery that during the last decade would trigger an explosion of research in all fields of science. This article introduces the reader to the discovery and consequent develop of applications of graphene to the medical field.

Resumen

El carbono es uno de los materiales más comunes del mundo, de hecho es el cuarto más común, y durante décadas se ha especulado acerca de sus posibles aplicaciones en su forma de grafeno. De hecho, el grafeno se consideró inestable e imposible de obtener por mucho tiempo, tanto así que sus posibles aplicaciones y características únicas parecían ser simples teorías en los libros de ciencia. Sin embargo, todo cambió cuando científicos de la Universidad de Manchester, Inglaterra, publicaron sus inesperados resultados acerca del estudio de este material en el año 2014. Este artículo repasa la historia del grafeno, sus características únicas y algunas de sus aplicaciones médicas.

Key words: Graphene, medical applications of graphene, origin of graphene.

Palabras clave: Grafeno, aplicaciones médicas del grafeno, origen del grafeno.

I. INTRODUCCIÓN

La medicina ha mutado de formas que algunos sospecharon y otros no, desde el descubrimiento del microscopio de luz, que nos llevó a ver los primeros microorganismos hasta el siguiente paso lógico: la invención de químicos contra esos microorganismos dada su relación con miles de enfermedades letales. La medicina a lo largo de su historia ha luchado, evolucionado y cada cierto tiempo lo hace de manera veloz, agresiva y existen gran cantidad de científicos alrededor del mundo que piensan que un nuevo cambio está ocurriendo en nuestra época. Vivimos en la época de la medicina basada en evidencia, guías de práctica clínica, medicina molecular y microscópica, e innovadores a nivel mundial buscan el siguiente gran avance, la nueva

¹ Autor para correspondencia: hsm1089@gmail.com

pauta, el siguiente paso que deslumbró al mundo. El grafeno ha irrumpido en prácticamente todas las disciplinas que conocemos y la medicina no es la excepción, desde aplicaciones tangibles como su uso por sus cualidades únicas electro térmicas en óptica y prótesis, pasando por antibiótico-terapia y finalmente a nivel molecular contra células cancerígenas específicas. Lo que hace 10 años era impensable es nuestra realidad. A continuación una breve visión de los cambios que se están viendo en el mundo y en la investigación médica y que se relacionan con el grafeno.

II. HISTORIA Y PROPIEDADES

El carbono se encuentra en la naturaleza en cantidades desorbitantes, a diferencia del silicón, su fácil y poco costoso acceso podría cambiar todos los paradigmas de la industria moderna que conocemos. Algunos autores han hablado desde la irrupción del grafeno como una nueva fiebre del oro, ¿pero que es el grafeno exactamente? El grafeno es una forma de carbono que consiste de hojas con el grosor de un átomo, alineado en forma de colmena o hexágono [11] (Figura 1).

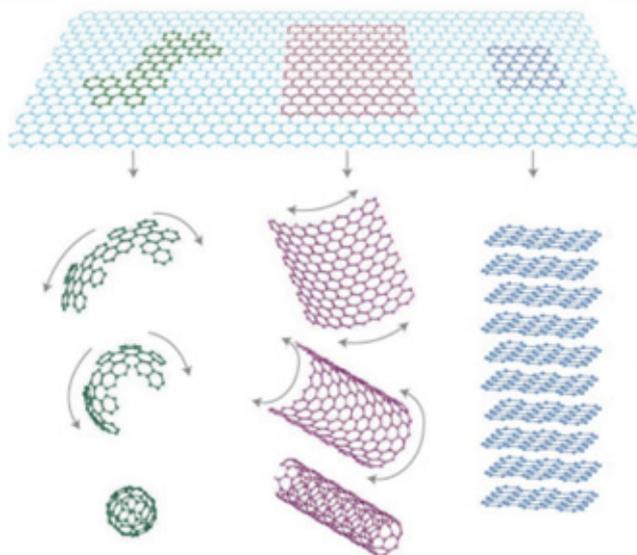


FIGURA 1. Estructura atómica del grafeno (Tomado de A K Geim, K S Novoselov. (2007). *Rise of graphene*. *Nature Materials* 6. 183–191. doi:10.1038/nmat1849)

Hasta ahora nada fuera de lo extraordinario, dado que todo el mundo conoce varios alótropos de carbono, entre los más famosos seguramente el grafito, que todos usamos alguna vez para escribir, y los diamantes. Entonces, ¿qué tiene de singular este alótropo?. El grafeno es 300 veces más fuerte que el acero, más fuerte que los diamantes, es maleable y permite doblarlo con facilidad, es mejor conductor eléctrico que el cobre y tiene propiedades de conducción térmicas superiores a la mayoría de los materiales de uso cotidiano y su característica principal que lo ha definido es ser el primer material en 2 dimensiones a nuestra disposición (sus electrones solo pueden moverse invariablemente en 2 dimensiones) [10].

Desde finales del siglo XIX, los científicos intentaron desarrollar el material que es la forma más sencilla del carbono, sin éxito, hasta que Wallace publica sus hallazgos acerca del material en 1946. El físico utilizó métodos de extrapolación con capas de grafeno, lo consideró inestable e incluso externó que su producción real era imposible [18]. Posteriormente a inicios del siglo XXI, tras muchos intentos fallidos, Andre Giem y Kostya Novoselov de la Universidad de Manchester

concibieron un método innovador e inesperado. Utilizando cinta adhesiva Scotch, pegaron y despegaron de forma repetitiva capas de grafito hasta que lograron aislar el grafeno de la cinta [10] (Figura 2). El hallazgo sonó tan ridículo que su artículo fue rechazado en 2 ocasiones a pesar de que los resultados fueron innegables, tanto que en 2010 ambos fueron galardonados con el premio Nobel en Física.

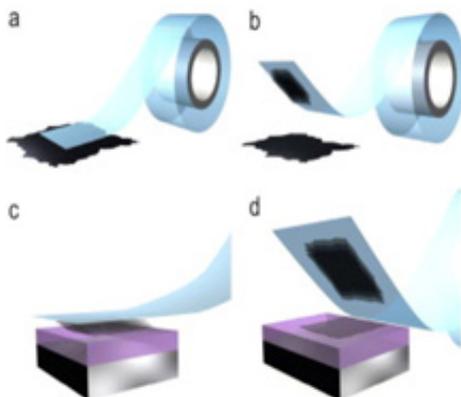


FIGURA 2. Imagen ilustrativa del proceso de Giem y Novoselov (Tomado de K S Novoselov, A H Castro Neto. (2012) *Two-dimensional crystals-based heterostructures: materials with tailored properties. Physica scripta. T146 014006. doi:10.1088/0031-8949/2012/T146/014006*)

En la actualidad, las investigaciones con grafeno son casi incontables y es posible encontrar aplicaciones en el campo de la biomedicina y la medicina translacional. Por lo anterior, a continuación, se presentan los estudios relacionados a sus efectos sobre el organismo y los cambios que su uso está causando en la medicina, en el lapso de los últimos últimos 5 años.

III. BIOCOMPATIBILIDAD Y SEGURIDAD

Los autores Yang et al. (2013) y Duch et al. (2011) han realizado múltiples estudios acerca de los efectos de la interacción del cuerpo con el grafeno y sus derivados. El grafeno no se utiliza de forma aislada, sino que debe pasar por varios procesos que le permitan su utilización segura y funcional en el cuerpo (hacerlo biocompatible). Lo anterior consiste en su transformación a óxido de grafeno PEGilado (Colocación de una capa de polietilenglicol a óxido de grafeno) y la subsecuente adición de fármacos como doxorrubicina en el centro de la molécula o radiomarcación con I^{125} y agregar en la superficie ligandos estilo complejo antígeno-anticuerpo [12]. (Figuras 3 y 4).

Por ejemplo, un problema de biocompatibilidad se encontró en el 2011 debido a la acumulación a nivel pulmonar de óxido de grafeno que resultó en lesiones pulmonares persistentes y severas, aunado a esto se aumentó el nivel de respiración mitocondrial, que a su vez aumentó la cantidad de especies de radicales libres, activando vías de inflamación y apoptosis resultando en estados protromboticos. Sin embargo, mediante procesos de pristinación y dispersión se lograron eliminar estos efectos nocivos [5]. Posteriormente en 2012 se publicó una revisión de la biocompatibilidad y seguridad de los materiales pertenecientes a la familia del grafeno donde se advertía de la similitud al asbesto y la misma capacidad de generar granulomas y tumoraciones tipo cuerpo extraño si se llegaba a ciertas cantidades del agente, no obstante, se menciona que cambios en la estructura de superficie del grafeno y derivados disminuyen sus efectos sobre el cuerpo de manera considerable [17]. Finalmente es importante mencionar el énfasis

que se pone en los riesgos por la inhalación del grafeno y sus derivados, dado que las investigaciones existentes son claras en los daños que pueden ocurrir por acumulación y que quedan evidenciados en varios estudios realizados en ratones acerca de la toxicología, biodistribución y farmacocinética entre los años 2011 y 2013. Además, de la pobre o casi nula absorción enteral del grafeno y derivados, se demuestran resultados concluyendo en la seguridad de utilizar óxido de grafeno con cobertura de polietilenglicol, lo que mejora notablemente su biocompatibilidad [19-21].

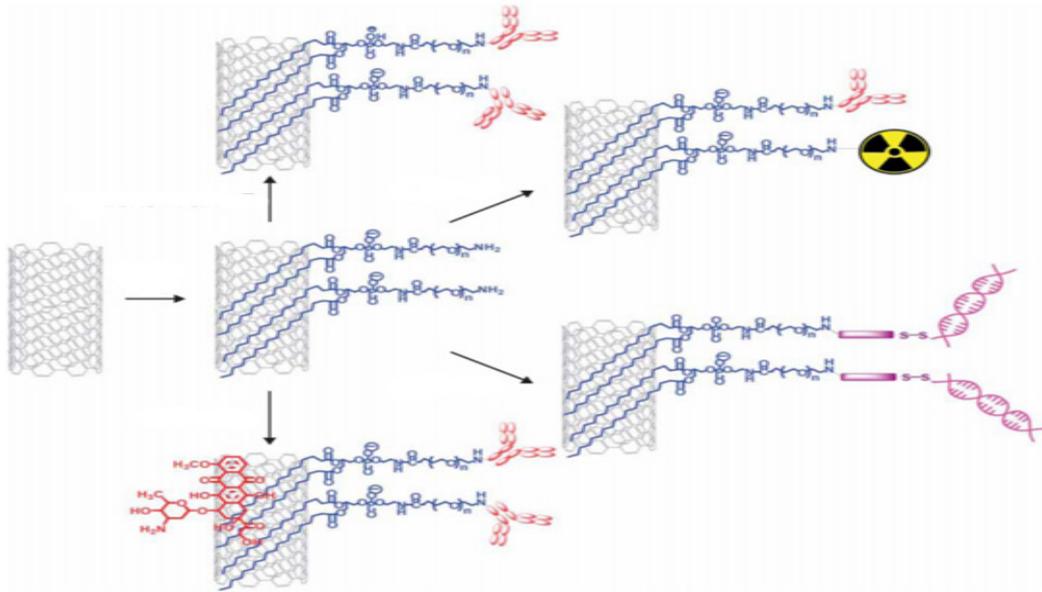


FIGURA 3. Adición de anticuerpos y quimioterapia a la superficie de nanotubos (grafeno en forma de tubo) biocompatibles. (Tomado de Zhuang Liu, S. M. (2009). Preparation of carbon nanotube bioconjugates for biomedical applications. *Nat Protoc.*, 1372–1382.)

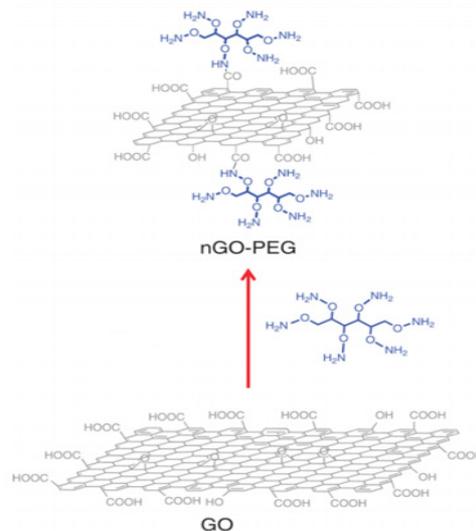


FIGURA 4. Óxido de grafeno biocompatible usando polietilenglicol (Tomado de Kai Yang, L. F. (2013). Preparation and functionalization of graphene nanocomposites. *NIH-PA*, doi:10.1038/nprot.2013.146. Obtenido de NIH-PA).

IV. APLICACIONES BIOMÉDICAS

El grupo de aplicaciones es enorme pero los campos que están desarrollando nuevas investigaciones incluyen: entrega de drogas, parasitología, ingeniería de tejidos, antibacteriales, terapia contra cáncer e imágenes y diagnóstico con sensores [16]. En el campo de los antibacteriales se han hecho descubrimientos acerca de las propiedades del grafeno y su familia sobre el crecimiento bacteriano, estudios sobre las acciones específicas contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, dos de las bacterias más problemáticas en la actualidad clínica. En este caso particular de dichas bacterias se concluyó que al poner un film de grafeno con cobre, la constante transferencia de electrones de la célula bacteriana al grafeno y posteriormente al cobre, resultaba para ambas bacterias en incapacidad de respiración celular y pérdida de potencial de membrana, lo que provocaba muerte celular. Lo anterior se puede apreciar en los cultivos de la figura 5 [8].

Otro estudio utilizó nanotubos de carbono PEGilados por primera vez y se le adicionó una capa de plata en busca de eliminar el patógeno *Salmonella typhimurium* resistente a la antibiotioterapia tradicional que ocasiona problemas clínicos. Anteriormente los nanotubos con plata habían demostrado potencial antibiótico pero su toxicidad contra las células humanas había levantado preocupaciones acerca de su seguridad. Sin embargo, en este estudio se demostró la seguridad de los nanotubos con plata PEGilados al ser usados también con 3 líneas celulares (hepatocelular, pulmonar y macrófagos) y se obtuvieron valores de MIC suficientes a los que se presentaba la muerte bacteriana por daño a la membrana celular, formación de especies reactivas y expulsión del contenido celular, sin ser dañinos a las células humanas [2].

Por su parte, en el caso de la entrega de drogas un ejemplo a citar es el uso de la doxorrubicina, un quimioterapéutico con afinidad por el grafeno, que aprovecha las propiedades de células cancerígenas para ser liberado en mayor cantidad en su interior, el cual es mencionado en numerosos estudios por Yang et al. (2008), Depan et al. (2011), Mendes et al (2013), Bai et al (2010) y Zhao et al (2015). Todos los estudios utilizan valores definidos de pH, concentración de sal y cisteína para lograr la liberación específica en células tumorales [16]. El uso de sistemas específicos de entrega son bastos, pero se pueden citar: la combinación de doxorrubicina con camptotecina, usando ácido fólico como marcador demostrando mejor actividad que el uso de quimioterapia sin óxido de grafeno como transporte [26] y el péptido chlorotoxina conjugado con óxido de grafeno cargado con doxorrubicina, los cuales logran una mayor muerte celular en un glioma que anteriormente era raramente satisfactoria debido a su poca entrega al sitio diana [25]. Otro ejemplo es el uso de TRC105 un anticuerpo monoclonal que se une a CD105 (endoglin, un marcador de superficie vascular encontrado en angiogénesis) en la superficie de óxido de grafeno. En este estudio se demostró la excelente estabilidad y especificidad de los reactivos y a través de PET (tomografía por emisión de positrones) se localizaron los puntos específicos donde se encontraba el tumor, lo que tiene gran significancia en la entrega de drogas y el uso de terapia fototermal [6].

Las células madre tumorales son un punto de inflexión clínica, difíciles de identificar y aún más difíciles de eliminar, y existe poca información de cómo manejarlas. A pesar de lo anterior, se cree que son fundamentales en el tratamiento de tumores quimio y radio resistentes. El óxido de grafeno tiene selectividad por dichas células, al punto que líneas celulares pertenecientes a mama, ovario, próstata, pulmón, páncreas y glioblastoma han demostrado afinidad. Además el óxido tiene la capacidad de prevenir la formación de esferas tumorales y de diferenciar las células no malignas, de tal forma que funcione no solo como transporte si no como terapia contra células madre cancerígenas. Esta propiedad ya se había visto con células madres no malignas

razón por la cual el grafeno se usa en medicina regenerativa como base para producción de tejidos. Estas propiedades significan que el óxido de grafeno incluso podría utilizarse en lavados de cavidad peritoneal como en cáncer de ovario para prevenir recurrencias [13]. Estas características serían la base para atacar, por ejemplo, marcadores tumorales en cáncer que clásicamente no responde a quimioterapia usando marcadores descubiertos recientemente como el CD44 y CD26 en cáncer gástrico obtenidos de muestras quirúrgicas en humanos [15].

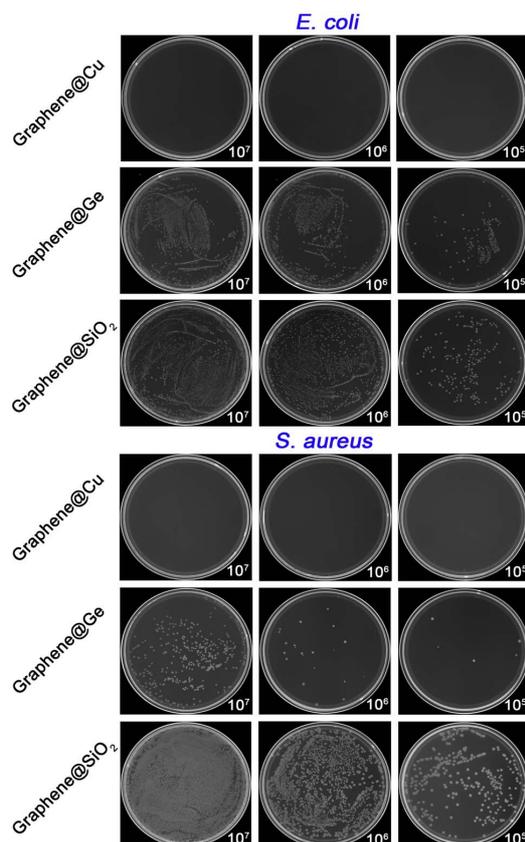


FIGURA 5. Fotografías de los experimentos donde se muestra la no presencia de *E. coli* y *S. aureus* en un film de grafeno con cobre. (Tomado de Jinhua Li, G. W. (2014). Antibacterial activity of large-area monolayer graphene film manipulated by charge transfer. *Scientific reports*, 4 : 4359 | DOI: 10.1038/srep04359)

Las células tumorales circulantes son otro gran problema de la medicina moderna, ya que al desprenderse del tumor primario cargan con la información necesaria para crear un nuevo sitio de tumoración. Además, ellas han demostrado ser altamente difíciles de detectar en estadios tempranos y avanzados. En la Figura 6 se observa la creación de un chip que consiste en una base de silicón sobre la cual se colocó una hoja de óxido de grafeno biocompatible mediante PEGilización en un patrón de oro. A dicho patrón, adicionalmente se le agregó una unión llamada GMBS que finalmente permite la unión de neutrAvidin y EpCAM (EpCAM, *epithelial cell adhesion molecule*, es un anticuerpo que sirve como marcador para detectar la presencia de CTC`s de tipo pancreático, pulmonar y mama). Al hacer fluir muestras de sangre preparadas con las CTC`s en el chip se logró una detección 73 % para 3-5 células por mililitro de sangre, porcentaje que podría elevarse al subir el número de células. Estas detecciones podrían cambiar totalmente el futuro de los pacientes [7].

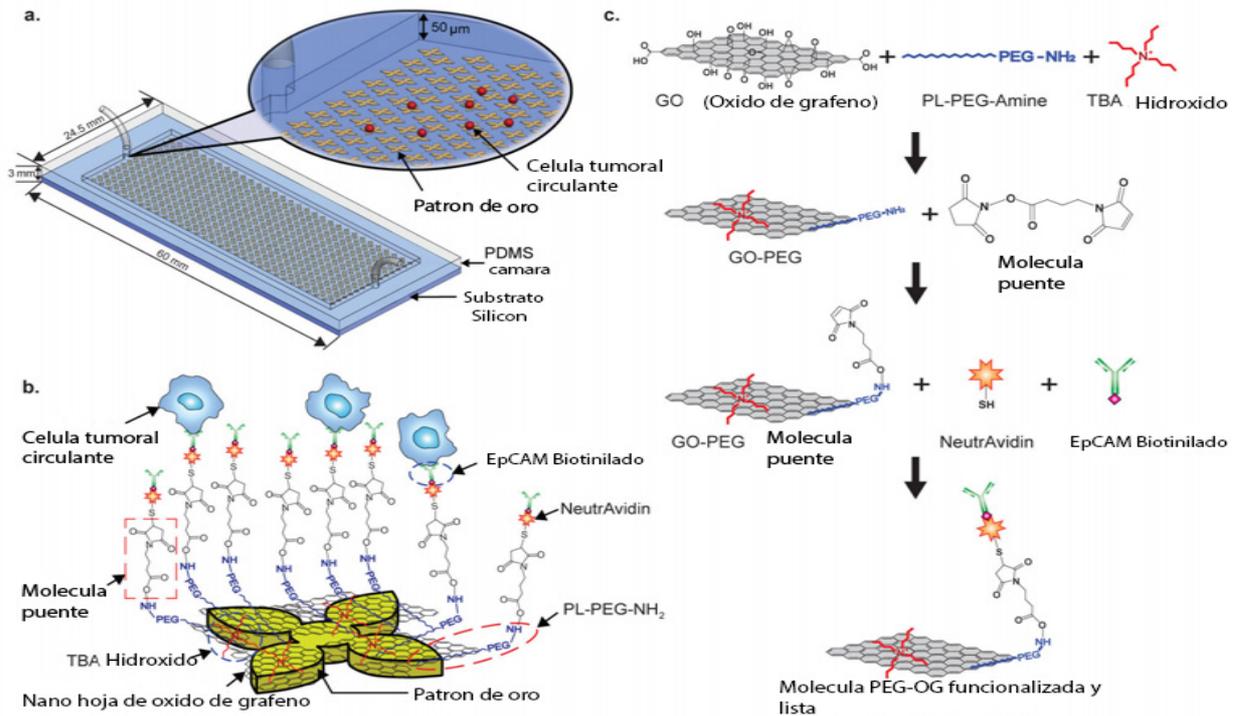


FIGURA 6. Estructura de la unión grafeno-CTC. (Tomado de Hyeun Joong Yoon, T. H. (2013). *Sensitive capture of circulating tumour cells by functionalised graphene oxide nanosheets*. *Nat Nanotechnol.*, 735–741)

Algunos autores resaltan que, aunque se logre introducir en células diana, la liberación del medicamento adherido al grafeno es poco controlable en tiempo real, si esto se basa en mecanismos pasivos o pH/redox. Por esta razón, se intentó estimular y controlar la liberación mediante estímulos eléctricos, pero el problema fue que el nivel de voltaje resultó dañino para los tejidos. Usando un polímero conductor como base, se adicionaron 3 elementos PPy (pirrol), óxido de grafeno y dexametasona, los 2 últimos como aniones para balancear las cargas positivas en el momento de la síntesis con el polímero conductor que es la base para la liberación de las moléculas de dexametasona con la estimulación eléctrica controlada. El óxido de grafeno no se libera por su tamaño y permite la liberación únicamente de la dexametasona de manera lineal y controlada, por lo que mediante este método se permitiría una terapia adaptada a cada paciente. Además, se probó la toxicidad de este material en relación a neuronas donde no se encontró evidencia de daño biológico [4].

En el caso de los biosensores se puede mencionar el aprovechamiento de las propiedades electrocatalíticas de la combinación de nanotubos con óxido de grafeno reducido como base para la medición de glucosa, NADH y fármacos como acetaminofén y valaciclovir todos con excelentes resultados. Aunque específicamente con glucosa, los autores son claros que la tecnología no está cerca para reemplazar a los métodos de primera y segunda generación tradicionales [3,22].

La ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa probablemente sean uno de los puntos más sorprendentes de la utilización de grafeno. Durante años se han utilizado diversas estructuras como andamio para lograr el crecimiento de nuevos tejidos, con la utilización de grafeno y derivados se han encontrado resultados promisorios [16]. Implantes de óxido de grafeno – Ti cargados de BMP's (bone morphogenetic proteins) y factores de sustancia P han demostrado capacidad para estimular el crecimiento óseo [27]. Además se ha demostrado que fibrina-grafeno hidroxipatita es una excelente plataforma para el crecimiento y maduración osteoblástica [29]. Al emplear la técnica de capa sobre capa para la formación de miocardio se encontró que usar poli-L-

lisina (PLL) más óxido de grafeno como nanopartículas para la base de la técnica, resultó en creación de capas más gruesas y grandes que las que se lograron previamente usando fibronectina, gelatina y nano filmes [28].

V. CONCLUSIONES

Algunas aplicaciones no se mencionan a profundidad, como las técnicas de imagen y terapia fotodinámica, sin embargo la idea de introducir al lector al mundo del grafeno y sus aplicaciones se exploró. Si bien durante los últimos 5 años se ha publicado mucha información acerca del grafeno, es claro que falta mucha investigación y experiencia sobretodo clínica. La información sobre el perfil tóxico y de biocompatibilidad es probablemente lo más controversial y es la piedra angular del avance que se debe dar, si bien la mayoría de la investigación arroja resultados positivos en este sentido. Revisando la bibliografía parece cuestión de tiempo para que el grafeno se vuelva tan importante como otros materiales, considerados demasiado peligrosos en el pasado, tales como los utilizados en quimioterapia y radioterapia. Sin importar la literatura que se revise, casi todos los autores parecen estar de acuerdo con que en este momento la imaginación es el límite para seguir avanzando.

VI. REFERENCIAS

- [1] Geim, A. K.; Novoselov K. S., *Nature Materials*, 2007, 6, 183–191, DOI:10.1038/nmat1849.
- [2] Chaudhari A. A.; Jasper, S. L.; Dosunmu, E.; Miller, M. E.; Arnold, R. D.; Singh, S. R. y Pillai, S., *Journal of Nanobiotechnology*, 2015, 13-23, DOI 10.1186/s12951-015-0085-5.
- [3] Adhikari, B. R.; Govindhan, M. y Chen, A., *sensors*, 2015, 15, 22490-22508, DOI:10.3390/s150922490.
- [4] Weaver, C. L.; La Rosa, J. M.; Luo, X. y Cui, X. T., *ACS Nano*, 2014, 8(2), 1834–1843, DOI: 10.1021/nn406223e.
- [5] Duch, M.C.; Scott Bundinger G. R.; Liang, Y. T.; Soberanes, S. Urich, D.; et al, *Nano Lett.*, 2011, 11(12), 5201–5207, DOI:10.1021/NL202515A.
- [6] Hong, H.; Yang, K.; Zhang, Y.; Engle, J. W.; Feng, L.; et al, *ACS Nano.*, 2012, 6(3), 2361–2370, DOI:10.1021/NN204625E.
- [7] Yoon, H. J.; Kim, T. H.; Zhang, Z.; Azizi, E.; Pham, T. M.; et al, *Nat Nanotechnol.*, 2013, 8(10), 735–741, DOI:10.1038/NNANO.2013.194.
- [8] Li, J.; Wang, W.; Zhu, H.; Zhang, M.; Zheng X.; et al, *Scientific reports*, 2014, 4, 4359, DOI: 10.1038/srep04359.
- [9] Novoselov, K. S.; Castro Neto, A. H., *Physica scripta*, 2012, T146, 014006, doi:10.1088/0031-8949/2012/T146/014006
- [10] Novoselov, K. S.; Geim, A. K.; Morozov, S. V.; Jiang, D.; Zhang, Y.; et al, *Science*, Vol. 306(5696), 666-669, DOI: 10.1126/science.1102896.
- [11] Novoselov, K.S.; Jiang, D.; Schedin, F.; Booth, T.J.; Khotkevich, V.V.; et al, *PNAS*, 2005, 102, 10451–10453.
- [12] Yang, K.; Feng, L.; Hong, H.; Cai, W. Liu, Z., *Nat Protoc.*, 2013, 8(12), 1038, DOI:10.1038/nprot.2013.146.
- [13] Fiorillo, M.; Verre, A. F.; Iliut, M.; Peiris-Pages, M.; Ozsvari, B.; et al., *oncotarget*, 2015, 6(6), 3553-3562, DOI:10.18632/oncotarget.3348

- [14] Bertrand, N.; Wun, J.; Xu, X.; Kamaly, N.; Farokhzad, O., *Adv Drug Deliv Rev.*, 2013, 66, 2–25, DOI: 10.1016/j.addr.2013.11.009
- [15] Nishikawa, S.; Konno, M.; Hamabe, A.; Hasegawa, S.; Kano, Y.; et al., *oncology letters*, 9(5), 2361–2367, DOI: 10.3892/ol.2015.3063.
- [16] Wu, S. Y.; An S. S. A.; Hulme, J., *International Journal of Nanomedicine*, 2015, 10, 9–24. DOI: 10.2147/IJN.S88285.
- [17] Sanchez, V. C.; Jachak, A.; Hurt R. H.; Kane, A. B., *An. Chem Res Toxicol*, 2012, 25(1), 15–34, DOI: 10.1021/tx200339h.
- [18] Wallace, P., *Physical review*, 1947, 71, 476.
- [19] Yang K, Wan, J.; Zhang, S.; Zhang, Y.; Lee, S. T.; Liu, Z., *ACS Nano.*, 2011, 5(1), 516–522. DOI: 10.1021/nn1024303.
- [20] Yang, K.; Gong, H.; Shi, X.; Wan, J.; Zhang, Y.; Liu, Z., *Biomaterials*, 2013, 34(11), 2787–2795, DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.01.001.
- [21] Yang, K.; Li, Y.; Tan, X.; Peng, R.; Liu, Z., *Small*, 2013, 9(9–10), 1492–503. DOI: 10.1002/smll.201201417.
- [22] Zhu, Z.; Garcia-Gancedo, L.; Flewitt, A.J.; Xie, H.; Moussy, F.; Milne, W.I., *Sensors*, 2012, 12(5), 5996–6022, DOI: 10.3390/s120505996.
- [23] Liu Z, Tabakman SM, Chen Z, Dai H. *Nat Protoc.* 2009;4(9):1372–82. doi: 10.1038/nprot.2009.146.
- [24] Fan, H.; Wang, L.; Zhao, K.; Li, N.; Shi, Z.; Ge, Z.; Jin, Z., *Biomacromolecules*, 2010, 11(9), 2345–2350, DOI: 10.1021/bm100470q
- [25] Wang, H.; Gu, W.; Xiao, N.; Ye, L.; Xu, Q., *Int J Nanomedicine*, 2014, 18(9), 1433–1442. DOI: 10.2147/IJN.S58783.
- [26] Zhang, L.; Xia, J.; Zhao, Q.; Liu, L.; Zhang, Z. F., *Small*, 2010, 22(4), 537–544, DOI: 10.1002/smll.200901680.
- [27] La, W.G.; Jin, M.; Park, S.; Yoon, H. H.; Jeong, G. J., et al., *Int J Nanomedicine*, 2014, 7;9 Suppl 1, 107–116, DOI: 10.2147/IJN.S50742.
- [28] Shin S. R.; Aghaei-Ghareh-Bolagh, B.; Gao, X.; Nikkhah, M.; Jung, S.M.; et al., *Adv Mater.*, 2014, 22(39), 6136–6144, DOI: 10.1002/adfm.201401300
- [29] Deepachitra, R.; Nigam, R.; Purohit, S. D.; Kumar, B. S.; Hemalatha, T.; et al., *Mater Manuf Process.*, 2014, 30(6), 804–811. DOI: 10.1080/10426914.2014.994758