



Grafen

– nowe możliwości w medycynie

Potential application on graphene in medicine

Ewa Pasięka¹, Jacek Lewandowski²

¹ Zakład Radiologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A, 15-276 Białystok, tel. +48 604 175 155, e-mail: ewapass@poczta.onet.pl

² Pracownia Hemodynamiki, Wojewódzki Szpital Zespolony im. J. Śniadeckiego w Białymstoku, ul. M. Skłodowskiej-Curie 26, 15-950 Białystok

Streszczenie

Abstract

Grafen otrzymano w warunkach laboratoryjnych w 2004 roku na Uniwersytecie w Manchesterze. Grafen jest dwuwymiarową formą węgla grubości jednej warstwy atomów o heksagonalnym ułożeniu (struktura plastra miodu). Cechuje go dobre przewodnictwo elektryczne i cieplne, jest mocniejszy niż stal, a jednocześnie elastyczny i rozciągliwy. Celem opracowania jest przegląd piśmiennictwa na temat potencjalnych zastosowań grafenu w medycynie oraz charakterystyka jego bezpieczeństwa. Diagnostyka obrazowa wiąże duże nadzieje z wykorzystaniem grafenu jako środka kontrastującego. Pierwsze dowody naukowe w zakresie obrazowania magnetycznym rezonansem jądrowym wskazują, że może stać się alternatywą preparatów gadolinu, szczególnie u pacjentów z niewydolnością nerek i po przeszczepie wątroby. Grafen może być realnym rozwiązaniem w poszukiwaniu idealnego biosensora do wykrywania lub oznaczania ilościowej substancji w badanym materiale, szczególnie w diagnostyce onkologicznej. Jednocześnie właściwości grafenu mogą być wykorzystane w nowoczesnych metodach leczenia nowotworów, np. w terapii genowej i fotodynamicznej. Wielokierunkowość zastosowań medycznych stawia pytanie o bezpieczeństwo grafenu. W wielu badaniach potwierdzono jego biogodność, jednak są i dowody *in vivo*, które wskazują, że tlenek grafenu po iniekcji dożylniej może odkładać się w tkance płucnej, prowadząc do procesów zapalnych. Badania nad grafenem muszą być rozwijane i pogłębiane, aby otrzymać rozwiązania, które będą połączeniem selektywnej funkcjonalności i wysokiego bezpieczeństwa.

Słowa kluczowe: grafen, bioczuJNIK, środki kontrastujące, terapia genowa, terapia celowana, terapia fotodynamiczna

Graphene was discovered in the laboratory in 2004 at The University of Manchester. Graphene is a two-dimensional form of carbon, a thickness of one layer of atoms of a hexagonal lattice (the honeycomb structure). It is characterized by good electrical and thermal conductivity, is stronger than steel and at the same time flexible and extensible. The aim of this paper is a review of literature on the potential applications on graphene in medicine and its safety. Diagnostic imaging has high hopes for the use of graphene as a contrast agent. The first scientific evidence in the field of magnetic resonance imaging indicate that it may become an alternative of gadolinium, in patients with renal failure and liver transplant. Graphene can be a viable solution in the search for the ideal biosensor for the detection or quantification of substances in the material, especially in the diagnosis of cancer. At the same time the properties of graphene can be used in the treatment of cancer (gene therapy and photodynamic therapy). Multidirectional medical applications raises the question about the safety of graphene. Number of studies confirmed its biocompatibility, but there are *in vivo* evidence that graphene oxide after intravenous injection may be deposited in the lung tissue, leading to inflammatory processes. Research on graphene must be developed to the aim of selective functionality and high safety.

Key words: graphene, biosensor, contrast agent, gene therapy, targeted cancer therapy, photodynamic therapy

otrzymano / received:

27.03.2015

poprawiono / corrected:

07.04.2015

zaakceptowano / accepted:

30.04.2015



Wprowadzenie

Węgiel jest pierwiastkiem powszechnie występującym w przyrodzie. Około 95% wszystkich związków chemicznych zawiera w swoim składzie węgiel. Grafen obok diamentu, grafitu i fulerenów jest odmianą alotropową węgla [1, 2]. Grafen otrzymano w warunkach laboratoryjnych w 2004 roku na Uniwersytecie w Manchesterze, jest dwuwymiarową formą węgla grubości jednej warstwy atomów o heksagonalnym ułożeniu (struktura plastra miodu). Może zostać zrolowany do nanorurki oraz ułożony w stopy jako grafit. Grafen cechuje się dobrym przewodnictwem elektrycznym i cieplnym, równocześnie nie rozprasza energii i nie pochłania światła. Dodatkowo jest mocniejszy niż stal oraz jednocześnie elastyczny i rozciągliwy. Ciekawą właściwością grafenu jest wytwarzanie silnego pola quasi-magnetycznego [2, 3].

W 2010 roku Andre Geim i Konstantin Novoselov otrzymali Nagrodę Nobla za odkrycie i opisanie właściwości grafenu. Ciekawy jest sposób, w jaki naukowcy pozyskali pierwsze próbki grafenu. Uczeni przyklejali taśmę samoprzylepną do brytki grafitu, po oderwaniu której nanosili płatki grafitu na podłożu z dwutlenku krzemu i poddawali obserwacji pod mikroskopem. Jeśli warstwa grafitu była zbyt gruba, przyklejali kolejny fragment taśmy. Cały proces powtarzano kilka razy, aż do uzyskania pojedynczej cząsteczki przezroczystego grafenu [4, 5]. Rosyjski fizyk Andre Geim jest noblistą, który otrzymał również Ig Nobla. W 2000 roku naukowiec został uhonorowany Anty-Noblem za badania nad lewitującymi żabami [6].

Celem opracowania jest przegląd piśmiennictwa na temat potencjalnych zastosowań grafenu w medycynie oraz charakterystyka jego bezpieczeństwa.

Grafen w diagnostyce obrazowej

Możliwe, że grafen w postaci nanorurki jedno- lub wielościennej zostanie zastosowany jako nośnik pierwiastków o wysokich liczbach atomowych, do wzmocnienia kontrastowego w badaniach rentgenowskich. Pomysł na połączenie nanorurki z bizmutem jako środkiem kontrastującym sprawdził się w fazie badań na zwierzętach. W badaniu tomografii komputerowej otrzymano obrazy o wyższej rozdzielczości kontrastowej niż po podaniu klasycznych środków kontrastujących na bazie jodu [7]. Obiecujące są również próby zastosowania grafenu w obrazowaniu magnetycznego rezonansu jądrowego (MRI). Kanakia i wsp. dowiedli, że kompleks grafenu z jonem manganu (Mn^{2+}) i dekstranem (GNP-Dex) wykazuje bardzo dobrą rozpuszczalność w wodzie (do 100 mg/ml), a jego osmolarność jest niższa niż krwi. W temperaturze ciała ludzkiego (do 37°C) preparat wykazuje strukturalną stabilność. Dodatkowo nie aktywuje procesu uwalniania histaminy, co sugeruje, że prawdopodobieństwo reakcji niepożądanych jest niskie. GNP-Dex wpływa na poprawę kontrastowości obrazu w czasach T1-zależnych MRI. Kanakia i wsp. sugerują, że kompleks grafenu z jonem manganu i dekstranem może

stać się realną alternatywą w stosunku do chelatów gadolinu, szczególnie u pacjentów z niewydolnością nerek i po przeszczepie wątroby [8]. Peng i wsp. zastosowali grafen jako nośnik tlenku żelaza w połączeniu z manganem ($MnFe_2O_4$). Potwierdzono, że nowy środek kontrastujący wpłynął pozytywnie na wydajność kontrastu w obrazach T2-zależnych. Dodatkowo badając cytotoksyczność preparatu potwierdzono jego biogodność [9]. Badacze z zespołu Paratala zwracają uwagę, że mangan jest naturalnym budulcem komórek ciała ludzkiego, dostarczany wraz z produktami żywnościowymi (podaż w codziennej diecie 0,1-0,4 mg), dlatego nowe środki kontrastujące MRI zawierające grafen i mangan mogą stanowić nową jakość w obrazowaniu opartą o bezpieczeństwo pacjenta [10].

Z grafenem łączone są również nadzieje na pozyskanie nowej rodziny środków kontrastujących w obrazowaniu z użyciem ultradźwięków. W badaniach Romero-Aburto i wsp. potwierdzono, że związek tlenku grafenu z fluorem (FGO) cechuje silny efekt rozpraszania fali i powrót energii w kierunku odbiornika, tzw. rozpraszanie wsteczne (*backscattering*) [11].

Grafen a redukcja zakażeń

Tlenek grafenu (GO) wykazuje silne działanie bakteriobójcze. Efekt związany jest z mechanicznym niszczeniem błon komórkowych przez ostre krawędzie plastrów grafenu i destrukcyjnym działaniem tlenu. Połączenie właściwości bakteriobójczych z wytrzymałością i elastycznością grafenu może zostać wykorzystane w ortopedii i traumatologii, gdzie problemem są zakażenia i ścieranie się materiału endoprotezy w miejscu powierzchni stawowych [12]. Tworząc nowe materiały opatrunkowe, próbuje się również łączyć nanorurki grafenowe ze srebrem, które cechuje się właściwościami antybakteryjnymi o szerokim spektrum działania (bakterie, grzyby, pierwotniaki, niektóre wirusy). Takie rozwiązanie wydaje się być pożądaną alternatywą dla powszechnie stosowanych materiałów z antybiotykami [13].

Biosensory z wykorzystaniem grafenu

Biosensor (bioczuJNIK) jest urządzeniem analitycznym do wykrywania lub oznaczania ilościowego substancji w badanym materiale, składającym się z biologicznie aktywnej części receptorowej oraz elementu przetwornikowego [14]. Główną rolą biosensorów w medycynie są rutynowe kontrole analityczne i wczesne wykrywanie problemów związanych z funkcjonowaniem organizmu. Nadzieje związane z grafenem wpisują się w poszukiwanie idealnych rozwiązań w zakresie wczesnej diagnostyki onkologicznej oraz badań przy tóżku pacjenta i w podmiotach leczniczych, które nie dysponują rozbudowanym zapleczem laboratoryjnym (*point of care testing*) [15]. Największe oczekiwanie wiąże się z zastosowaniem nanorurek jako czujników elektrycznych, optycznych, elektrochemicznych, co bazuje na szerokich właściwościach grafenu [16]. Naukowcy zwrócili uwagę, że nanorurki grafenowe wykazują znacząco odmienne właściwości



elektryczne niż duże arkusze grafenu, co może być podstawą do opracowania wysokoczułych i selektywnych tranzystorów polowych do detekcji cząsteczek DNA zmienionych patologicznie komórek [17]. Hong i wsp. odnieśli sukces, używając elektrody pokrytej grafenem do diagnostyki ostrej białaczki szpikowej i raka nerki [18]. Istnieje wiele dowodów naukowych na to, że biosensory na bazie grafenu cechują się wysoką funkcjonalnością i mogą mieć szerokie zastosowanie medyczne. Zhou i wsp. wykazali przydatność grafenu do wykrywania nadtlenu wodoru (H_2O_2) jako produktu enzymatycznej oksydazy [19]. Alwarapan i wsp. zwrócili uwagę na skuteczność zastosowania grafenu jako czynnika różnicującego dopaminę od serotoniny [20]. Zhang i wsp. opracowali czujnik z grafenem do nieinwazyjnego pomiaru stężenia glukozy w płynach ustrojowych [21]. Powyższe przykłady to tylko niewielki fragment szerokiej literatury w zakresie przedmiotu, co daje nadzieję, że biosensory grafenu znajdą swoje miejsce w praktyce klinicznej.

Grafen w nowoczesnej terapii

Nanorurki z grafenu mogą również zostać zastosowane jako nośniki leków stosowanych w leczeniu nowotworów, np. glejaka. Przewagą terapii celowanej z wykorzystaniem nanorurki grafenowej jest optymalna selektywność i odpowiednio długi czas uwalniania farmaceutyku [22].

Grafen znalazł także zastosowanie w terapii genowej. Polega ona na wprowadzeniu do komórki fragmentów DNA przy użyciu tzw. wektorów. Idealnie wektor dostarczający gen powinien chronić kwas nukleinowy przed degradacją przez enzym nukleazy. Grafen został przebadany pod kątem możliwości wprowadzenia genów do komórek. Udowodniono jego silne powinowactwo do pojedynczej nici DNA i RNA [23].


Grafen stosowany jest także w terapii fotodynamicznej jako nośnik tzw. fotoczułaczy, których zadaniem jest przekazanie energii do patologicznej masy guza – wytwarzanie ciepła – terapia fototermiczna PTT (*Photothermal Therapy*, PTT) lub wytwarzanie reaktywnych form tlenu – terapia fotodynamiczna PDT (*Photodynamic Therapy*, PDT) [23]. Wyniki badań Li i wsp. są obiecujące w zakresie zastosowania fototerapii w leczeniu choroby

Alzheimera, w którym dysocjacja włókien amyloidu- β została ułatwiona po zastosowaniu tlenku grafenu [24].

Bezpieczeństwo stosowania grafenu w rozwiązaniach biomedycznych

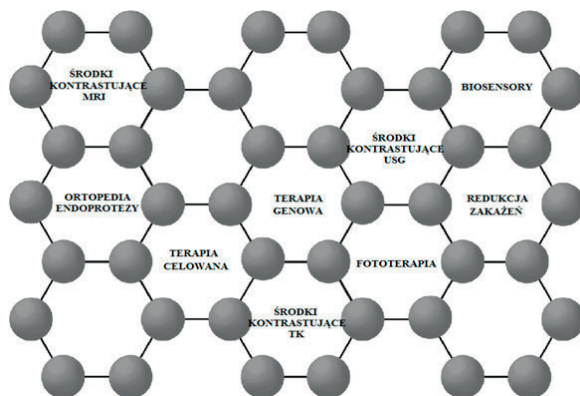
Wielokierunkowe ścieżki zastosowania grafenu w medycynie rodzą pytanie o bezpieczeństwo pacjenta i personelu ochrony zdrowia oraz pracowników laboratoriów badawczych i linii technologicznych wytwarzających środki i materiały na potrzeby diagnostyki i leczenia. Nanomateriały mogą przedostawać się do organizmu człowieka drogą inhalacyjną, pokarmową oraz przez skórę. Największe zagrożenie w przypadku nanomateriałów stanowi aspiracja do płuc, gdyż przenikają one przez błonę komórkową nabłonka dróg oddechowych [25]. Dodatkowo, w kilku badaniach na zwierzętach wykazano, że tlenek grafenu po iniekcji dożylniej może odkładać się w tkance płucnej, prowadząc do procesu zapalnego [26, 27]. Również w pracy zespołu badaczy pod kierunkiem L. Horváth dowiedziono cytotosycywności grafenu w stosunku do makrofagów oraz komórek nabłonka naczyń płucnych [28]. W najbliższych latach kwestią kluczową badań inżynierii biomateriałów będzie odpowiedź na pytanie, czy uda się tak połączyć grafen z różnymi pierwiastkami chemicznymi, aby zachować jego funkcjonalność przy redukcji toksyczności.

Podsumowanie

Grafen to ekscytujący materiał. Jest alotropową odmianą węgla o doskonałych właściwościach fizykochemicznych, która posiada ogromny potencjał do zastosowań medycznych (rys. 1). Opracowanie na bazie grafenu nanomateriałów biomedycznych musi iść w parze z oceną ewentualnych działań niepożądanych. 

Literatura

1. E.H.L. Falcao, F. Wudl: *Carbon allotropes: beyond graphite and diamond*, J Chem Technol Biotechnol, 82(6), 2007, 524-531.
2. M. Ludwik-Pardała: *Perspektywy wykorzystania surowców węglowych w innowacjach technologicznych*, Research Reports Mining and Environment, 4, 2011, 73-86.
3. Y. Zhu, S. Murali, W. Cai, X. Li, J. W. Suk, J.R. Potts, R.S. Ruoff: *Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications*, Adv. Mater, 20, 2010, 1-19.
4. B. Trauzettel: *Od grafitu do grafenu*, Post Fiz, 58(6), 2007, 250-256.
5. M. Hebda, A. Łopata: *Grafen – materiał przyszłości*, Czasopismo Techniczne Mechanika, 8-M(22), 2012, 45-54.
6. S. Nadis: *Ig Nobel glory for levitating frogs and collapsing toilets*, Nature, 407, 2000, 665.
7. N. Piątek: *Nanorurki jako nośnik bizmutu* [online], [dostęp: 6.03.2015]. Dostępny w internecie: <<http://materialyinzynierskie.pl/nanorurki-jako-nosnik-bizmutu>>.
8. S. Kanakia, J.D. Toussaint, S.M. Chowdhury, G. Lalwani, T.



Rys. 1 Obszary zastosowania grafenu w medycynie



- Tembulkar, T. Button, K.R. Shroyer, W. Moore, B. Sitharaman: *Physicochemical characterization of a novel graphene-based magnetic resonance imaging contrast agent*, *Int J Nanomedicine*, 8, 2013, 2821-2833.
9. E. Peng, E.S.G. Choo, P. Chandrasekharan, C.T. Yang, J. Ding, K.H. Chuang, J.M. Xue: *Synthesis of manganese ferrite/graphene oxide nanocomposites for biomedical applications*, *Small*, 8(23), 2012, 3620-3630.
 10. B.S. Paratal, B.D. Jacobson, S. Kanakia, L.D. Francis, B. Sitharaman: *Physicochemical characterization, and relaxometry studies of micro-graphite oxide, graphene nanoplatelets, and nanoribbons*, *PLoS ONE*, 7 (6), 2012, e38185 [online], [dostęp: 8.03.2015]. Dostępny w internecie: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0038185>>.
 11. R. Romero-Aburto, T.N. Narayanan, Y. Nagaoka, T. Hasumura, T.M. Mitcham, T. Fukuda, P.J. Cox, R.R. Bouchard, T. Maekawa, D.S. Kumar, S.V. Torti, S.A. Mani, P.M. Ajayan: *Fluorinated graphene oxide; a new multimodal material for biological applications*, *Adv Mater*, 25(39), 2013, 5632-5637.
 12. W. Hu, C. Peng, W. Luo, M. Liv, X. Li, D. Li, Q. Huang, C. Fan: *Graphene – based antibacterial paper*, *ACS Nano*, 4, 2010, 4317-4323.
 13. A. Kędziora, Y. Gerasymchuk, E. Sroka, G. Bugla-Płoskońska, W. Doroszkiewicz, Z. Rybak, D. Hreniak, R. Wiglusz, W. Stręk: *Wykorzystanie materiałów opartych na częściowo zredukowanym tlenku grafenu z nanocząstkami srebra jako środków bakteriostatycznych i bakteriobójczych*, *Polim. Med.*, 43(3), 2013, 129-134.
 14. A. Sankiewicz, B. Puzan, E. Gorodkiewicz: *Bioczujniki SPRI – narzędzie diagnostyczne przyszłości*, *Chemicz.*, 68, 2014, 528-535.
 15. P. Cynk, E. Gawel: *Zastosowanie biosensorów w diagnostyce choroby nowotworowej*, *Prz Med Uniw Rzesz Inst Leków*, 3, 2012, 373-378.
 16. W. Yang, K.R. Ratinac, S.P. Ringer, P. Thordarson, J.J. Gooding, F. Breat: *Carbon nanomaterials in biosensors: should you use nanotubes or graphene?*, *Angew Chem Int Ed Engl*, 49(12), 2010, 2114-2138.
 17. M. Pumera: *Graphene in biosensing*, *Materials Today*, 14(7-8), 2011, 308-315.
 18. P. Hong, W. Li, J. Li: *Applications of aptasensors in clinical diagnostics*, *Sensors*, 12, 2012, 1181-1193.
 19. M. Zhou, Y. M. Zhai, S. J. Dong: *Electrochemical biosensing based on reduced graphene oxide*, *Anal. Chem*, 81, 2009, 5603-5613.
 20. S. Alwarappan, A. Erdem, C. Liu, C.Z. Li: *Probing the electrochemical properties of graphene nanosheets for biosensing applications*, *J. Phys. Chem. C*, 113(20), 2009, 8853-8857.
 21. M. Zhang, C. Liao, C.H. Mak, P. You, C.L. Mak, F. Yan: *Highly sensitive glucose sensors based on enzyme-modified whole-graphene solution-gated transistors*, *Sci Rep*, 5, 2015, 8311 [online], [dostęp: 11.03.2015]. Dostępny w internecie: <<http://www.nature.com/srep/2015/150206/srep08311/full/srep08311.html>>.
 22. J. Rzeszutek, M. Matysiak, M. Czajka, K. Sawicki, P. Rachubik, M. Kruszewski, L. Kapka-Skrzypczak: *Zastosowanie nanocząstek i nanomateriałów w medycynie*, *Hygeia Public Health*, 49(3), 2014, 449-457.
 23. S.C. Reshma, P.V. Mohanan: *Graphene: a multifaceted nanomaterial for cutting edge biomedical application*, *Int J Med Nano Res*, 1, 2014 [online], [dostęp:10.03.2015]. Dostępny w internecie: <<http://clinmedlibrary.com/articles/ijmnr/ijmnr-1-003.pdf>>.
 24. M. Li, Yang X., J. Ren, K. Qu, X. Qu: *Using graphene oxide high near-infrared absorbance for photothermal treatment of Alzheimer's disease*, *Adv Mater*, 24(13), 2012, 1722-1728.
 25. A. Jung: *Nanocząstki w zastosowaniach medycznych – kierunek przyszłości?*, *Pediatr Med Rodz*, 10(2), 2014, 104-110.
 26. X.Y. Zhang, J.L. Yin, C. Peng, W.Q. Hu, Z.Y. Zhu, W.X. Li, C.H. Fan, Q. Huang: *Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous administration*, *Carbon*, 49, 2011, 986-995.
 27. Y. Zhang, T.R. Nayak, H. Hong, W. Cai: *Graphene: a versatile nanoplatform for biomedical applications*, *Nanoscale*, 4(13), 2012, 3833-3842.
 28. L. Horváth, A. Magrez, M. Burghard, K. Kern, L. Forró, B. Schwalzer: *Evaluation of the toxicity of graphene derivatives on cells of the lung luminal surface*, *Carbon*, 64, 2013, 45-60.