



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
“EL GRAFENO EN EL
TRATAMIENTO DEL CÁNCER”**

Autor: Natalia Sánchez-Ocaña Martín

D.N.I.: 05457122-G

Tutor: Isabel Izquierdo Barba

Convocatoria: Febrero 2016

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. RESUMEN.....	3
2. ABSTRACT.....	3
3. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	4
4. OBJETIVOS.....	4
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
6. RESULTADOS.....	4
6.1 CARACTERÍSTICAS DEL GRAFENO	
6.2 SÍNTESIS DEL GRAFENO	
6.3 APLICACIONES DEL GRAFENO EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER	
6.4 EMPRESAS ESPAÑOLAS QUE PRODUCEN GRAFENO	
7. DISCUSIÓN.....	18
8. CONCLUSIONES.....	19
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

1. RESUMEN

Tras el aislamiento del grafeno en 2004 y la descripción de sus características únicas, son muchos los investigadores que se han interesado por estudiar este material.¹ Los campos de investigación en los que se involucra, son múltiples y muy diversos tales como nuevas tecnológicas (telefonía, automovilística...), industria textil (aditivo para pieles, material deportivo...), construcción (aditivo de hormigón, adhesivos industriales...) así como en el campo de las ciencias de la salud (biosensores, prótesis dentales, nanomedicina...)² donde ha cobrado especial relevancia por su gran potencial. El objetivo del presente trabajo, es dar a conocer algunas de las características más relevantes de este material como su gran potencial químico, los métodos de síntesis actuales que aún continúan sin poseer un buen balance rendimiento-coste y sobre todo exponer en esta revisión bibliográfica, los resultados obtenidos en diversas investigaciones que emplean el grafeno para el tratamiento del cáncer mediante terapias como liberación controlada de fármacos, combinaciones farmacológicas, liberación farmacogénica, fototerapia...etc. Por último, se destacan las principales empresas españolas que producen este material.

2. ABSTRACT

After the isolation of Graphene in 2004 and the description of its unique features, there are many researchers who are interested in studying this material. It is involved in multiple and very diverse fields such as new technologies (telephones, automobiles...), textile industry (additive for skins, sports material...), construction (additive of concrete, industrial adhesives...) as well as in the field of the Health Sciences (biosensors, dentures, nanomedicine...) where has gained special importance because his great potential.

The aim of this paper is to present some of the most relevant characteristics of this material like his chemical potential and methods of current synthesis. Otherwise this process don't have a good cost-efficiency balance yet. This review is focused on the results obtained in different investigations using graphene for the treatment of cancer. Actually there are many therapies like controlled drug release, drug combination, pharmacogenetics, phototherapy... etc. Finally, this article exposes the most important companies that work with graphene in Spain.

3. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El grafeno es un material de carbono puro, con una estructura hexagonal bidimensional formada por una única capa de átomos. No se encuentra como tal en la naturaleza, pero constituye cada una de las capas del grafito. Se consideraba que no era posible aislarlo pues como película monoatómica sería termodinámicamente inestable. Sin embargo, en 2004 dos investigadores de la Universidad de Manchester; André Geim y Konstantin Novoselov demostraron que era posible, mediante la exfoliación de una muestra de grafito con cinta adhesiva de tal manera que al final del proceso obtenían una capa de grafeno de espesor monoatómico.

Geim y Novoselov recibieron por ello y por demostrar que este material tiene unas propiedades inesperadas, el premio Nobel de Física en el año 2010.³

4. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión bibliográfica a través de diversas bases de datos científicas, con el fin de conocer las características que hacen del grafeno un material único, los métodos actuales de síntesis y las líneas de investigación más recientes en cuanto al tratamiento del cáncer empleando grafeno.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se empleó principalmente la base de datos científica “PubMed”, de donde se extrajeron la mayor parte de artículos que fueron analizados en profundidad. Asimismo se emplearon otras fuentes tales como “NIH”, “INTECH”, revistas de divulgación científica digitalizadas, artículos publicados por departamentos de distintas universidades, tesis doctorales sobre la materia de estudio...

Las palabras clave empleadas para la búsqueda fueron principalmente: “grafeno” y “cáncer”.

Se estableció como punto de partida que la información a manejar fuera de libre acceso y que no tuviera una antigüedad superior a 5 años.

6. RESULTADOS

6.1 CARACTERÍSTICAS DEL GRAFENO

Este material surge de la agrupación de átomos de carbono en láminas de dos dimensiones y en celdas hexagonales.

Las estructuras más gruesas se pueden considerar como películas delgadas de grafito. Por tanto, puede entenderse que el grafeno es la unidad fundamental de todas las formas de grafito.⁴

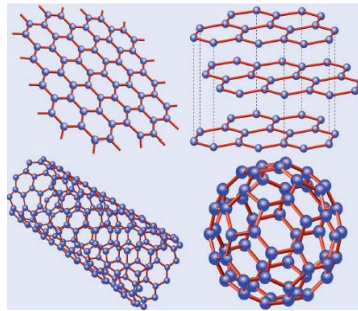


Fig.1: El grafeno (arriba izq.) se puede curvar en fullerenos 0D (abajo dcha.), enrollar en nanotubos 1D (abajo izq.) y apilarse en grafito (arriba dcha.)

En el grafeno, los átomos de carbono se disponen formando una red de hexágonos. Cada átomo de carbono se une a otros 3, compartiendo 3 de sus electrones de la capa de valencia y dando lugar a 3 enlaces σ fuertes (hibridación sp^2), los cuales, se encuentran a 120° entre sí, generando una estructura plana. **Estos enlaces determinan la elevada resistencia del grafeno**, así como la disposición en una estructura estable semejante a una colmena, que le confiere gran elasticidad respecto a otros materiales. El cuarto electrón (por cada átomo de carbono) se encuentra libre (no enlazado) en orbitales π que se extienden verticalmente por encima y por debajo del plano, por lo que la hibridación se extiende por toda la lámina de grafeno. **Estos enlaces π son los responsables de la conductividad eléctrica del grafeno.**⁴

Es interesante destacar, que el grafeno es un material cuyas propiedades electrónicas lo sitúan a caballo entre el conjunto de los metales y el de los semiconductores.⁵

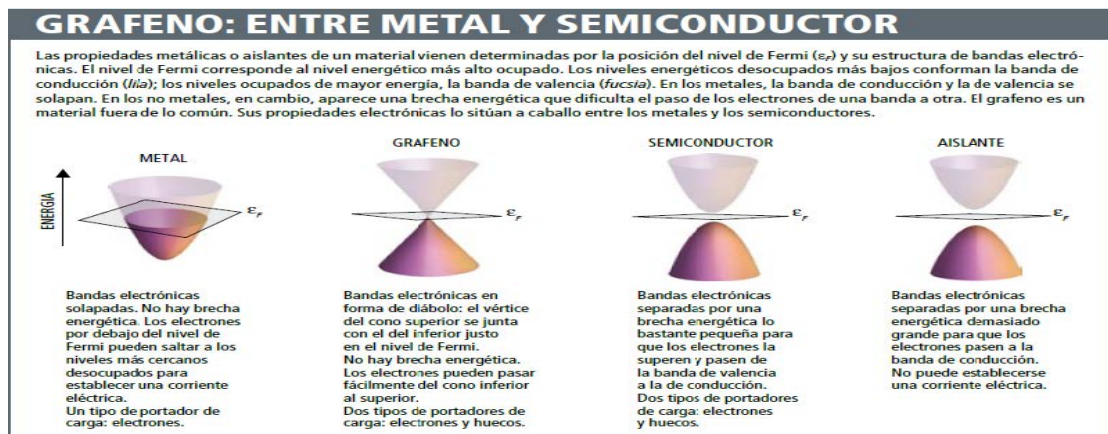


Fig.2: Grafeno entre metal y semiconductor⁵

Asimismo;

- ✓ Su resistencia mecánica es 200 veces mayor que la del acero.
- ✓ Puede reaccionar químicamente con otras sustancias, lo que dota a este material de gran potencial de desarrollo.
- ✓ Soporta la radiación ionizante.
- ✓ Es muy ligero, como la fibra de carbono, pero más flexible. Se ha demostrado que la red del grafeno puede estirarse, de forma reversible, hasta un 10%. La mayoría de los sólidos dejan de ser estables para deformaciones inferiores al 3%.
- ✓ Tiene menor efecto Joule, es decir, se calienta menos al conducir los electrones.⁶

6.2 SÍNTESIS DEL GRAFENO⁷

1. Exfoliación mecánica:

Usando celofán se extraen por exfoliación finas láminas de grafeno a partir de grafito (“highly oriented pyrolytic graphite”: HOPG) y son transferidas a un sustrato. Este método provee el mejor grafeno en cuanto a integridad estructural se refiere. Sin embargo, es limitado debido al poco control que ofrece sobre el tamaño, espesor de la lámina obtenida... por lo que no podría desarrollarse a escala industrial.

2. Solución de óxido de grafeno (GO):

Método que a día de hoy resulta prometedor con vistas a su producción y procesado a gran escala ya que se obtiene una gran cantidad de material estable en forma de dispersión acuosa u orgánica, y con un bajo coste económico.

En esta técnica se emplea polvo de grafito como material de partida e involucra el empleo de sustancias fuertemente oxidantes (KMnO_4) en medio ácido H_2SO_4 (método Hummers).

Tras el proceso de oxidación se obtiene un material que posee una estructura laminar constituida por capas apiladas de óxido de grafeno (GO).

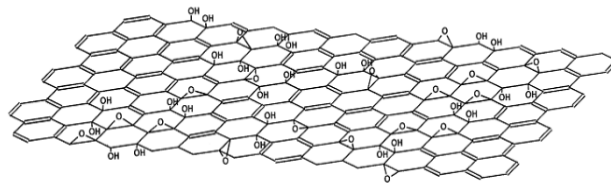


Fig. 3: Estructura de la lámina de GO. Los grupos $-\text{OH}$ y epoxi perturban la conjugación electrónica de la red mediante enlaces sp^3 .

Estas capas presentan una gran cantidad de funcionalidades de oxígeno, por lo que son altamente hidrófilas. Los grupos oxigenados y las moléculas de agua adsorbidas hacen aumentar de manera considerable la distancia entre láminas, con lo que la energía de interacción entre capas disminuye y el óxido de grafito resulta fácilmente exfoliable en medio acuoso aplicando una fuente de energía como los ultrasonidos.

Sin embargo, debido a la presencia de estos grupos (hidroxilo, epóxido, carbonilo y carboxilo en los límites) se pierde la conductividad.

Es por esto, por lo que se lleva a cabo una reducción del GO para generar grafeno y recuperar esta propiedad. El agente reductor más empleado es la hidracina ($\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$).

Sin embargo la restauración no es completa y las funciones oxigenadas no son eliminadas por completo, por lo que la estructura de las láminas es mucho menos viable que las obtenidas por otros métodos.

3. Crecimiento epitaxial usando sustratos de SiC:

Mediante este método, el grafeno se obtiene por calentamiento, a ultra alto vacío (UHV) o en atmósfera inerte (Ar) a presión atmosférica, de un sustrato de carburo de silicio. Dicho calentamiento ($> 1300\text{ }^\circ\text{C}$) induce la sublimación de los átomos de silicio y la reorganización de los átomos de carbono, que permanecen sobre el sustrato formando láminas de grafeno de calidad estructural razonablemente buena.

Es un método poco viable por las condiciones de operación ($>1000\text{ }^\circ\text{C}$; UHV) y el rendimiento relativamente bajo, además de la dificultad para controlar el número de láminas de grafeno que se forman.

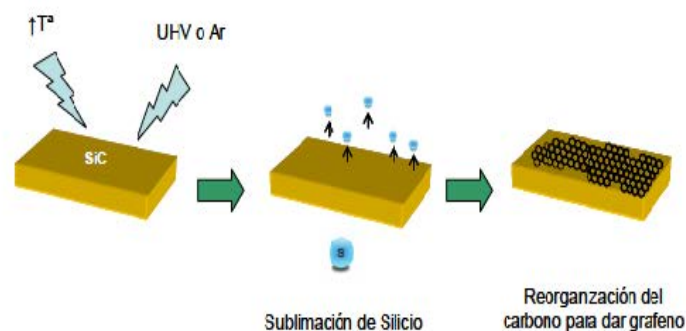


Fig.4: Crecimiento epitaxial de grafeno sobre sustrato de carburo de Si.

4. Síntesis por deposición química de vapor o “Chemical Vapor Deposition (CVD) synthesis”

En términos generales, el CVD consiste en la deposición de un sólido sobre un sustrato a alta temperatura usando precursores moleculares que se descomponen y/o recombinan para dar lugar al material en cuestión.

En el caso del grafeno el sustrato es un metal de transición, níquel o cobre que se calienta a alta temperatura y se expone a una atmósfera de un precursor carbonoso (hidrocarburo). Éste se descompone y los átomos de carbono se unen al metal difundándose o adsorbiéndose sobre él. A continuación, el sustrato se enfría formándose la lámina de grafeno.

Por último, la lámina se separa del sustrato metálico, mediante la disolución de éste. Estas láminas pueden depositarse sobre otros sustratos sin necesidad de complicados tratamientos químicos o mecánicos que perjudiquen la calidad estructural del grafeno.

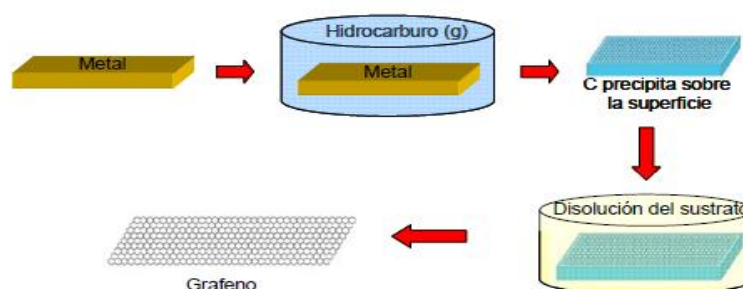


Fig.5: Proceso CVD para obtener grafeno

6.3 APLICACIONES DEL GRAFENO EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

1. Drug delivery⁸

El GO y sus derivados funcionales exhiben un arsenal de propiedades que son útiles para transportar distintas moléculas terapéuticas tales como DNA, anticuerpos, proteínas, genes y fármacos.

Las propiedades del GO que influyen en la capacidad de transportar y liberar fármacos son algunas como el área de la superficie, el número de láminas, las dimensiones laterales, y la química de superficie.

La elevada área de superficie ($2,600 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) de una sola capa o lámina permite una gran carga en la misma con el fármaco de interés, sin embargo la falta de rigidez disminuye la penetración a nivel celular.

Las dimensiones laterales de las láminas de GO no afectan a la capacidad de carga del fármaco, pero podrían suponer limitaciones a la hora de alcanzar el torrente sanguíneo, el transporte a nivel cerebral, el aclaramiento renal y la biodegradación.

El éxito de un vehículo de GO transportador del fármaco (“carrier”) depende así de 3 factores:

- Capacidad de carga del fármaco óptima.
- Confirmar el grado de toxicidad y biocompatibilidad, requisito indispensable para llevar a cabo ensayos clínicos y pre-clínicos.
- Diseñar un sistema capaz de liberar el fármaco de manera controlada y en una diana designada (tumor).

Una estrategia común para lograr la especificidad por la diana tumoral, es conjugar el carrier con ligandos específicos (anticuerpos policlonales, ácido fólico, transferrina...) que reconozcan la superficie del tumor.

Otro enfoque es el de inmovilizar el fármaco sobre la superficie del grafeno, y que solo sea capaz de liberarse en el ambiente tumoral.

Actualmente se encuentran abiertas diversas líneas de investigación y hasta el momento, se han obtenido resultados tales como:

- La Doxorubicina (DOX), molécula anticancerígena, forma un enlace fuerte con la superficie del GO. Asimismo, se observó que la liberación de DOX era mayor en un ambiente ácido o tumoral que en el tejido normal.

Ante esto, numerosos investigadores han tratado de emplear el ambiente ácido de las células tumorales a su favor, mediante el desarrollo de vehículos de grafeno que contengan polímeros sensibles a pH.

Uno en particular, empleó un conjugado pH-sensitivo de GO con un hidrogel de polivinil alcohol para cargar y descargar el fármaco de

ensayo VB12. Se observó que el porcentaje de fármaco liberado era dependiente del pH y de la concentración salina del medio.

Por otro lado, las células cancerosas contienen una mayor concentración de glutatión reducido o GSH en su citoplasma y endolisosomas. Se diseñó así, un nanocarrier de GO (GON) al cual se le introduciría polietilenglicol (PEG), para mejorar las características de solubilidad del carrier (GON-PEG), seguido de la adición de ácido metacrílico para dar lugar a ácido polimetacrílico en el seno del carrier (PMAA-GON-PEG). A continuación se insertaría cistamina, la cual formaría enlaces con el PMAA y se cargaría el fármaco (DOX) el cual formaría enlaces con la cistamina.

En el ambiente tumoral al existir concentraciones elevadas de GSH, la cistamina sería reducida por el mismo y oxidándose así el glutatión a GSS-cistamina. Esto provocaría la liberación de DOX.

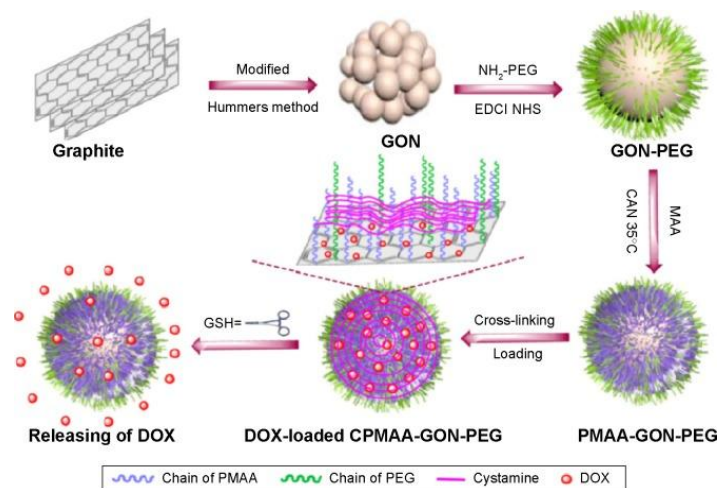


Fig. 6: Esquema de formación del nanocarrier.

Se observó por tanto, que el carrier liberaba DOX 6 veces más rápido a pH 5.0 en presencia de 10 mM de GSH que a pH 7.4 con 10 μ M de GSH (tejido normal).

- Existen otras estrategias químicas como esterificación y biodegradación que pueden utilizarse para controlar la liberación del fármaco.
- También métodos externos tales como la utilización de ultrasonidos, campos magnéticos y eléctricos... Un ejemplo de esto, es un estudio realizado en el cual se emplea un campo magnético para liberar el fármaco de un nanocomposite de grafeno/ Fe_3O_4 .

Otro ejemplo de este concepto, se encuentra en un estudio en el que la liberación del fármaco se observa que puede controlarse mediante la aplicación de pulsos eléctricos de bajo voltaje en plataformas de grafeno con ácido metacrílico (AMA), a bajas concentraciones de grafeno. La incorporación de hojas de grafeno altamente conductor en el hidrogel (AMA) disminuyó significativamente el calor generado a partir de la matriz del hidrogel, minimizando así la necrosis circundante de la piel y el tejido.

2. Terapia combinada

Podemos encontrar combinaciones terapéuticas de fármacos para su administración simultánea, de modo que actúen sobre distintas dianas y se aumente la efectividad en el tratamiento del cáncer.⁸

- Así, se llevó a cabo la combinación de dos fármacos anticancerígenos DOX y camptotecina (CPT) sobre un nanocarrier GO de ácido fólico (FA-NGO) vía π - π stacking e interacciones hidrofóbicas que actuaban sobre las células cancerosas MCF-7 (cáncer de mama). Los resultados demostraron que la combinación de ambos fármacos en el NGO daba lugar a una mayor citotoxicidad en la diana en comparación con el uso de los fármacos por separado.^{8,9}

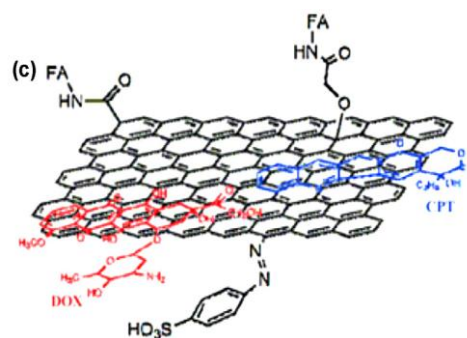


Fig.7: FA-NGO cargado con DOX y CPT.

- En otro estudio, se llevó a cabo la conjugación del péptido clorotoxina (el cual se une selectivamente a las células de glioma), con plataformas de GO cargadas con DOX. Los experimentos mostraron que esta asociación

daba lugar a mayor ratio de muerte de las células de glioma que usando DOX libre o GO/DOX.⁸

Por otro lado, se ha investigado la asociación y liberación de un fármaco y un gen.

- Un polímero catiónico, en este caso, polietilenimina (PEI) se unió covalentemente al GO vía amidación. El complejo formado facilitaba la carga de siRNA (“small interference RNA”), mediante adsorción electrostática. El siRNA puede inhibir la expresión proteica mediante la escisión del RNA mensajero, y en base a esto, se funcionalizó para inhibir la expresión de la proteína Bcl-2. Asimismo se llevó a cabo la carga vía π - π stacking de DOX sobre PEI-GO.⁸

Ambos complejos (“PEI-GO/Bcl-2-targeted siRNA” y PEI-GO/DOX) se transfirieron a las células Hela (linaje de células de cáncer cérvico-uterino). Gracias al efecto sinérgico de inhibir la proteína Bcl-2 por el siRNA y la inhibición de DNA y RNA por la DOX, la eficiencia anticancerígena fue significativamente mayor.⁸

- Es importante destacar que la aparición de resistencias a múltiples fármacos ocurre frecuentemente en cánceres agresivos y en pacientes con un pronóstico terminal. La sobreexpresión de MicroRNA-21 (miR-21) se ha asociado con la MDR (“multidrug resistance”) en el cáncer de mama.⁸

En base a esto, se diseñó un nanocomplejo multifuncional de GO al que se le adiciona primero PSS (polysodium 4-styrenesulfonate), que sirve de anclaje para la unión de PEI. Se da lugar así al “carrier PGG”, el cual portará adriamicina (ADR) (denominación de DOX). Asimismo, es adicionado un siRNA (Anti-miR-21).⁸

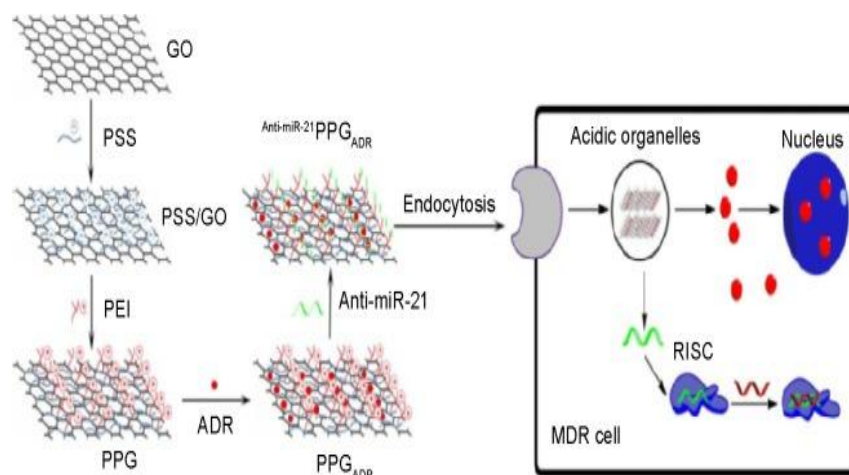


Fig. 8: Esquema de formación de $^{Anti-miR-21}PPG_{ADR}$

El experimento demostró que el carrier $^{Anti-miR-21}PPG_{ADR}$ incrementaba significativamente la acumulación de ADR en las células MCF-7/ADR (línea de células de cáncer de mama resistentes a ADR) y mostraba mayor citotoxicidad que ADR libre. Esto sugiere que PGG podría revertir la resistencia a ADR.⁸

3. Fototerapia

La fototerapia incluye la terapia fototérmica (PTT) y la terapia fotodinámica (PDT).

- La PTT emplea un agente de absorción óptica para generar calor bajo la irradiación de luz, por lo que los tejidos biológicos se ven expuestos a temperaturas elevadas y promueven la destrucción selectiva de células anormales. El grafeno recibe mucha atención desde este campo debido a su gran capacidad de absorción óptica del IR cercano.¹¹

Se llevó a cabo un estudio en el que se desarrolló un NGO-PEG-DOX, el cual permitía tanto la liberación del fármaco (visto anteriormente) como la liberación de calor ante la irradiación, a la región tumoral. Los resultados “in vivo” demostraron que la eficacia era mayor que la quimioterapia o fototerapia por separado.¹¹

- La PDT se basa en el concepto de que mediante la irradiación de compuestos fotosensibles o “photosensitizers” (PSs) con la luz adecuada,

se generan especies reactivas de oxígeno o radicales libres resultando en el daño irreversible de las células cancerosas.

Considerando su solubilidad y biocompatibilidad, en un estudio inmovilizaron hypocrellin-A (HA) (fármaco fotodinámico anticancerígeno hidrofóbico) en GO vía π - π stacking, interacciones hidrofóbicas y enlaces de hidrógeno. Los resultados demostraron que GO-HA podía ser excitado mediante irradiación con luz a una longitud de onda apropiada para generar oxígeno libre. Los test en células Hela revelaron una elevada absorción del complejo y una significativa muerte celular.^{10, 11}

En otro estudio, se combinaron los beneficios de la PDT y la PTT cargando Chlorine6 (Ce6, un PSs) en GO-PEG y llevaron el complejo a un cultivo de células KB (sublínea de la línea Hela). Se observó que mediante la irradiación con láser IR se promovía la liberación de Ce6 por el calentamiento local debido al efecto fototérmico del grafeno. Comparándolo con Ce6 o GO-PEG-Ce6 sin radiación IR, el efecto contra las células cancerosas era mayor.¹¹

- Por otro lado, ante la exposición UV, ciertas partículas inorgánicas tales como TiO_2 y ZnO pueden generar electrones que den lugar a la formación de ROS como H_2O_2 , $\text{OH}\cdot$, y radicales superóxido. Sin embargo, la luz UV no es capaz de penetrar profundamente en los tejidos y es limitada a la acción sobre tumores superficiales. Además los ROS producidos por esta vía (luz UV) tienen un tiempo de vida media corto y su efecto anticanceroso no es prolongado.

En un estudio, se llevó a cabo la conjugación de GO con TiO_2 , la unión era posible gracias a los grupos carboxílicos de GO que interaccionaban con grupos $-\text{OH}$. Ante la irradiación con luz UV el TiO_2 genera un electrón y el protón que queda en la capa de valencia puede reaccionar con H_2O para formar radicales $\text{OH}\cdot$.

El electrón (que llega al GO) reacciona con el oxígeno (O_2) para formar O_2^- u $\text{O}_2^{\cdot-}$, los cuales reaccionarán con H^+ para formar H_2O_2 .

El H_2O_2 puede reaccionar con O_2^- y reducirlo a $\text{OH}\cdot$. La acumulación de ROS aumenta la actividad fotodinámica, la cual causa peroxidación

lipídica y despolarización de la membrana mitocondrial. También puede incrementar la actividad de la caspasa-3, induciendo la apoptosis celular.¹²

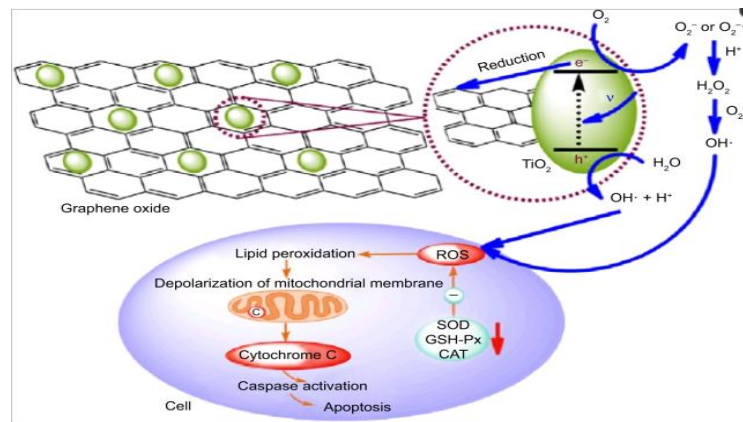


Fig.9: Formación de radicales libres tras la irradiar con UV al TiO_2

4. GO y rGO usados como tal

Los átomos de carbono en los lindes de la lámina poseen una reactividad química especial. Tanto la actividad de la superficie como la de los lindes de la lámina favorecen mecanismos de adherencia a las membranas celulares.¹²

Esta conexión podría suprimir el aporte de nutrientes, inducir estrés y activar vías apoptóticas en las células cancerosas.¹²

El objetivo del estudio que se muestra a continuación era cuantificar la toxicidad de GO y rGO y sus actividades pro-apoptóticas y necróticas en las líneas celulares U87 y U118 (glioma). Los resultados determinaron:

- En ambas líneas celulares se observó que tanto GO como rGO atacaban principalmente al cuerpo celular pero no a las protrusiones. Las células tratadas con GO eran similares a las del grupo control, sin embargo había una clara diferencia respecto a las tratadas con rGO, las cuales eran más ovales, densas y sus protrusiones eran más cortas¹³.



Fig.10: células de glioma U87: control (A), tratadas con GO (B), tratadas con rGO(C).

- Aumentando la concentración de GO y rGO se producía una disminución de la viabilidad celular. La más baja observada con GO y con rGO fue a 100 µg/ml en ambas líneas celulares. Asimismo se producía una disminución de la proliferación.¹³

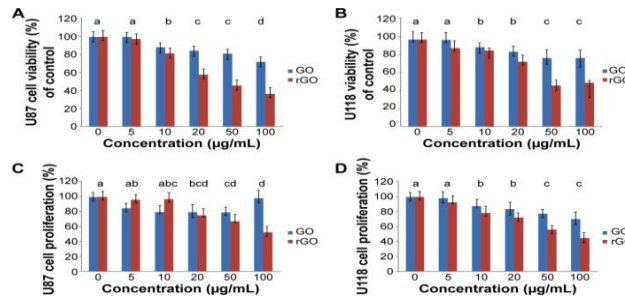


Fig.11: Efecto de GO y rGO en la viabilidad (A, B) y proliferación (C, D) de U87 (A, C) y U118 (B, D)

- GO inducía la apoptosis aunque en menor grado que rGO. Esto se relacionaba con los valores obtenidos de viabilidad y concentración.¹²
- También se analizó el propio tumor, el cual reducía su tamaño y su volumen de manera similar siendo tratado con GO como con rGO.¹³

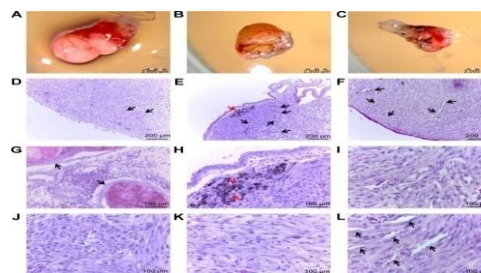


Fig.12: Glioblastoma. (A, D, G, J) control; (B, E, H, K) tratados con GO; y (C, F, I, L) con rGO.

En otro estudio¹⁴, se llevó a cabo la reducción de GO mediante resveratrol para generar una nueva nanomolécula (RES-rGO) y estudiar su citotoxicidad y utilidad en el tratamiento del cáncer de ovario. Los resultados fueron los siguientes:

- Tanto GO como RES-rGO reducían la viabilidad celular de manera dosis-dependiente. Sin embargo, RES-rGO demostró ser más citotóxico, así como el control empleado H-rGO.¹⁴
- GO, RES-rGO, y H-rGO inducían cambios morfológicos tiempo-dependientes como pérdida de forma, reducción de la adhesión celular...Sin embargo el efecto de RES-rGO y H-rGO era mayor.¹⁴

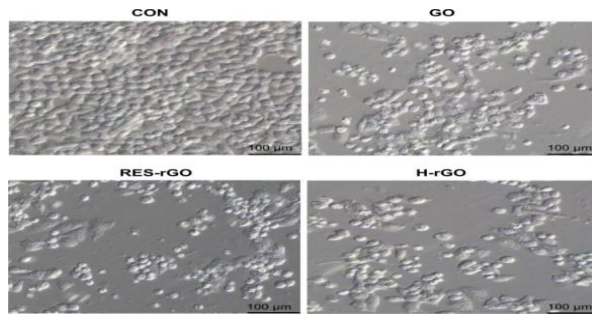


Fig.13: Morfología de las células ováricas cancerosas tratadas con GO, RES-rGO, H-rGO.

- La integridad de la membrana se analizó mediante la salida de LDH (lactato deshidrogenasa) intracelular. El tratamiento con RES-rGO y H-rGO demostró mayor impacto en la integridad de la membrana.¹⁴

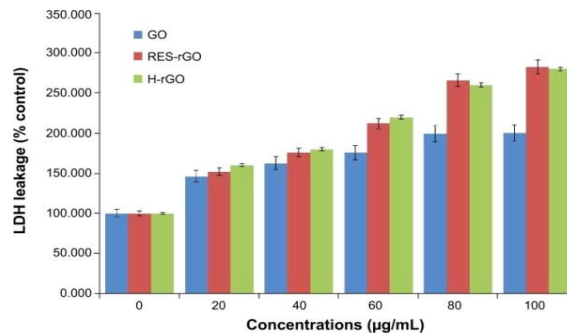


Fig.14: GO, RES-rGO y H-rGO inducen la salida de LDH al medio extracelular

- GO, RES-rGO y H-rGO inducen la generación de ROS de manera concentración-dependiente. El efecto de RES-rGO y H-rGO era mayor. Los ROS causan estrés oxidativo, que genera la rotura de la membrana lipídica, alteraciones en rutas metabólicas y apoptosis.¹⁴

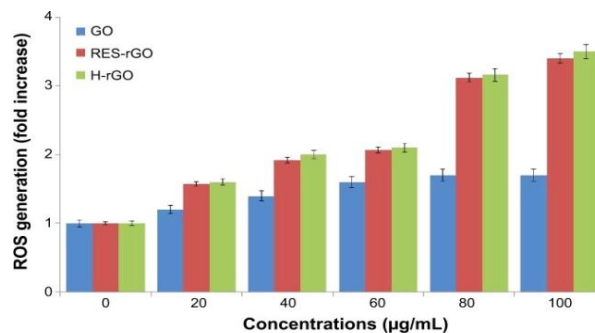


Fig.15: GO, RES-rGO y H-rGO inducen la generación de ROS en las células cancerosas

- Por último se observó que las formas de grafeno estudiadas, inducían la apoptosis por aumentar la actividad de la caspasa-3, en mayor medida lo hacía el RES-rGO.¹⁴

6.4 EMPRESAS ESPAÑOLAS QUE PRODUCEN GRAFENO^{15, 16}

1. **Graphenano:** Empresa líder mundial en fabricación de grafeno con sede en principal en Alicante. Esta empresa fabrica láminas de grafeno, cable de grafeno, grafeno en polvo y grafeno en piezas 3D. Su sistema de producción está basado en el CO₂ y no en el grafito.
2. **Graphenea nanomaterials:** Empresa con sede en San Sebastián que fabrica láminas de grafeno, liderando en Europa esta producción enfocada principalmente a I+D, centros de investigación y a empresas como Nokia o Philips.
3. **Avanzare:** Empresa con sede en Logroño cuya línea de producción es el grafeno en polvo para uso industrial.
4. **Granph NANOTECH:** Empresa con sede en Burgos que fabrica láminas de grafeno principalmente para la investigación.
5. **Graphendis¹⁶:** Empresa con sede en Alicante que se dedica a la investigación y distribución del grafeno a escala mundial.

7. DISCUSIÓN

La literatura actual en el campo del grafeno pese a ser un descubrimiento prácticamente nuevo es abundante, lo que nos lleva a comprobar la gran importancia que ha cobrado este material desde sus inicios. Algo que no es de extrañar, puesto que debido a sus diversas y únicas propiedades puede utilizarse en áreas de investigación tales como ingeniería, medicina, informática, construcción...

Sin embargo cabe destacar que los métodos de obtención a escala industrial a día de hoy siguen siendo demasiado costosos, por lo que es difícil extrapolar el grafeno de la teoría a la práctica. Especialmente en el campo de la farmacología, el proceso puede ser lento hasta ver al grafeno aplicado, ya que se ha de contar con el tiempo que se precisa para estudios de biocompatibilidad, toxicidad, ensayos clínicos, estudios post-comercialización... además de la hasta ahora costosa inversión que supone investigar con grafeno.

Los resultados obtenidos para el tratamiento del cáncer son positivos y prometedores e invitan a continuar con la investigación y descubrir todo el potencial de este material.

8. CONCLUSIÓN

Tras la revisión bibliográfica se ha podido realizar una evaluación de las características, métodos de síntesis y aplicaciones del grafeno en el tratamiento del cáncer así como las empresas que trabajan este material.

En el ámbito farmacológico se ha podido comprobar que el uso del grafeno como “nanocarrier” de fármacos, en terapias fototérmicas y usado como fármaco en sí mismo es efectivo para el tratamiento de diversos tipos de cáncer aunque hasta ahora solo se disponen de resultados “in vivo” con animales de experimentación e “in vitro”.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ajay K, Chee HL. Synthesis and Biomedical Applications of Graphene: Present and Future Trends. INTECH. 2013; Capítulo 3. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/advances-in-graphene-science/synthesis-and-biomedical-applications-of-graphene-present-and-future-trends>
2. Graphenano. Sede Web de la empresa. Visitada Nov. 2015. Disponible en: <http://www.graphenano.com/i-a.html>
3. Juan-C.D, M^a Angélica G, Manuel V, Hebert L, Jesús R, Gladys G, Jesús B, Sergio D. La revolución de lo nano. Revista electrónica: Quimera. Sept. 2014. Disponible en: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/quimera>.
4. Asdrúbal VG. El grafeno. Revista Colombiana de Materiales. 2011; N^o1. Disponible en: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/materiales/article/view/9172/8476>
5. José GC, M^a Ángeles HV, Francisco G. Electrónica del grafeno. Investigación y ciencia. Sept. 2010. Disponible en: <http://www.investigacionyciencia.es/files/6818.pdf>
6. María MH. Síntesis de estructuras grafeno/metal/grafeno mediante la técnica CVD y caracterización... Tesis doctoral online (ICAI). Junio 2015. Disponible en: <http://www.iit.upcomillas.es/pfc/resumenes/5581aeb6db384.pdf>
7. Pablo SF. Modificación superficial de materiales de carbono: grafito y grafeno. Tesis doctoral online (Universidad de Oviedo). 2011. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/34323/1/TESIS-Pablo%20Solis.pdf>

8. Si-Ying W, Seong SAA, John H. Current applications of graphene oxide in nanomedicine. Ag. 2015. PubMed. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4554423/>
9. Chul C, Young-Kwan K, Dolly S, Soo-Ryoon R, Byung H, Dal-Hee M. Biomedical applications of graphene and graphene oxide. Accounts of chemical research. Dic. 2013. Vol. 46- n° 10. Disponible en:
<http://pubs.acs.org/journal/achre4>
10. Yuqi Y, Abdullah MA, Zhiwen T, Dan D, Yuehe L. Graphene based materials for biomedical applications. Materials Today. Elsevier. Oct. 2013. Vol. 16- n° 10. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369702113003015>
11. Yin Z, Tapas RN, Hao H, Weibo C. Graphene: a versatile nanoplatform for biomedical applications. Jul. 2013. NIH. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3376191/>
12. Yan L, Haiqing D, Yongyong L, Donglu S. Graphene-based nanovehicles for photodynamic medical therapy. Mar. 2015. PubMed. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4383220/>
13. Jaworski S, Sawosz E, Kutwin M, Wierzbicki M, Hinzmann M, Grodzik M, Winnicka A, Lipińska L, Włodyga K, Chwalibog A. In vitro and in vivo effects of graphene oxide and reduced graphene oxide on glioblastoma. Feb. 2015. PubMed. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25759581>
14. Gurunathan S, Han JW, Kim ES, Park JH, Kim JH. Reduction of graphene oxide by resveratrol: a novel and simple biological method for the synthesis of an effective anticancer nanotherapeutic molecule. Abr. 2015. PubMed. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=graphene+resveratrol>
15. D. Pérez. Cuatro empresas españolas se disputan el control del grafeno. El Confidencial. Marz. 2013. Disponible en:
http://www.elconfidencial.com/tecnologia/2013-03-05/cuatro-empresas-espanolas-se-disputan-el-control-del-grafeno_767851/
16. Graphendis. Sede Web de la empresa. Visitada en dic. 2015. Disponible en:
<http://www.graphendis.com/>