

Neurorregeneración con nanotubos de carbono

Ana Sánchez Molina

Resumen— Los avances de los últimos años en la nanotecnología han arrojado luz sobre enfoques innovadores y perspectivas prometedoras para la regeneración de tejidos y, en concreto, para la reparación de tejido nervioso. Los nanotubos de carbono presentan una serie de propiedades que los hacen atractivos por su potencial uso en neurorregeneración, como su resistencia mecánica o su alta conductividad eléctrica. Así, ya sea en forma de andamiajes, en combinación con otros sustratos o en suspensión, diversos estudios han descrito la capacidad de estos nanomateriales de estimular el crecimiento axonal y promover la regeneración del tejido nervioso tanto *in vivo* como *in vitro*. Aunque aún es necesario depurar las características de estos nanotubos, todo apunta a que en un futuro no muy lejano podrán alcanzar la aplicación clínica.

Palabras Claves— Nanotubos de carbono, neurorregeneración, biocompatibilidad, conductividad eléctrica, resistencia mecánica, andamiaje.



1. INTRODUCCIÓN

Cada vez son más comunes las enfermedades neurodegenerativas, las cuales conllevan un deterioro del sistema nervioso, sobre todo de las neuronas del cerebro, la médula espinal y el sistema nervioso periférico [1]. Estas alteraciones afectan ya a un importante porcentaje de la población mundial, y su número va incrementándose año tras año. La pérdida de células nerviosas, ya sea en el cerebro o en la médula espinal, se asocia a una gran cantidad de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o el Parkinson, además de problemas como el traumatismo medular o el craneoencefálico [2], todas ellas afecciones que causan una elevada preocupación en la sociedad actual.

A día de hoy, el sistema nervioso supone una traba a la hora de desarrollar tratamientos y avances biomédicos. El sistema nervioso central (SNC) se encuentra protegido por lo que se conoce como barrera hematoencefálica, que dificulta la mayoría de intervenciones terapéuticas y de diagnóstico. Además, la pobre capacidad de regeneración que presentan las neuronas supone una dificultad añadida, pues hace que la recuperación funcional completa tras haber sufrido daños en el tejido nervioso sea prácticamente imposible [3]. Por otro lado, en muchos casos se producen daños en el sistema nervioso periférico (SNP) donde la alteración nerviosa es tan extensa que no puede regenerarse de forma natural [4]. Este campo, por lo tanto, abre las puertas a nuevas herramientas que permitan solventar todas estas barreras, y aquí es donde entra en juego la nanomedicina.

Puede definirse la nanomedicina como la aplicación de la nanotecnología al tratamiento, diagnóstico y prevención de diversas patologías, entre ellas alteraciones neurológicas [2]. Los avances de los últimos años en la nanotecnología han arrojado luz sobre enfoques innovadores y perspectivas prometedoras para la regeneración de tejidos y, en concreto, también para la reparación de tejido nervioso [5]. Los nanomateriales pueden interactuar con el tejido nervioso, siendo capaces de influir en la función

de hasta una única neurona [3]. Los nanotubos de carbono (CNTs) han emergido en los últimos años y se erigen como posibles herramientas en aplicaciones biomédicas, ya que tienen un gran potencial para su uso como andamiajes multifuncionales en tejido neurológico [3,6].

2. ¿POR QUÉ UTILIZAR CNTs?

2.1. Sistema tradicional: polímeros

El desarrollo de implantes neurológicos para favorecer el crecimiento axonal y promover la supervivencia de neuronas dañadas, así como la transmisión de la sinapsis, se alza como una solución potencial para combatir la degeneración de los sistemas nerviosos central y periférico [5]. Estudios realizados a lo largo del último siglo han servido para establecer que guiar físicamente a los axones es de gran importancia en la reparación de los nervios [1]. Para que este crecimiento pueda darse, es necesario superar un ambiente desfavorable y casi inhibitorio, o como el que se forma cuando se da un daño en el tejido nervioso. Además, para recuperar la funcionalidad del nervio, la organización espacial el axón tiene que ser la correcta, y la sinapsis tiene que establecerse de la forma adecuada. Por lo tanto, para lograr una neurorregeneración exitosa es necesario diseñar los sistemas y las estrategias de una forma efectiva y que se tengan en cuenta todos estos detalles [5].

Durante muchos años se ha propuesto la utilización de polímeros como soportes nerviosos debido a su flexibilidad, a que presentan una funcionalidad y una estructura similar a la de las biomoléculas de la matriz extracelular, a que son biocompatibles y a que pueden funcionalizarse de forma relativamente sencilla con proteínas esenciales y factores de crecimiento que mejoran su acción. Sin embargo, estos polímeros carecen de fuerza mecánica y tampoco poseen conductividad eléctrica, requisito fundamental para el crecimiento neuronal [1]. Esto puede resolverse

con la utilización de nanomateriales como los nanotubos de carbono.

2.2. Propiedades de los CNTs

Los CNTs son tubos cuyo tamaño se encuentra en la nanoescala, compuestos por átomos de carbono dispuestos en una estructura laminar enrollada. Pueden contar con varias capas concéntricas o una única capa, y se producen por diversas técnicas, aunque la más común es la deposición química de vapor, que implica la reestructuración de átomos de carbono mediante un catalizador metálico [6]. En aplicaciones con potencial clínico suelen emplearse nanotubos de carbono de una única pared (SWCNT, del inglés *single-walled carbon nanotubes*), constituidos por una única lámina de grafeno enrollada y cerrada en sus extremos por fullereno, y nanotubos de carbono de paredes múltiples (MWCNT, del inglés *multi-walled carbon nanotubes*) (Figura 1).

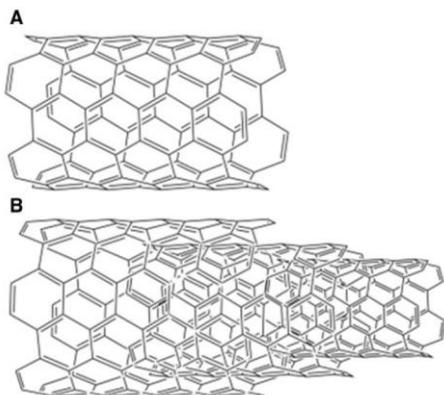


Fig. 1. Representaciones esquemáticas de un nanotubo de carbono de única pared (A) y un nanotubo de carbono de pared múltiple (B). Imagen obtenida de [2].

Estos nanotubos presentan una serie de propiedades que los hacen muy atractivos por su potencial uso en aplicaciones biomédicas. Los CNTs no son degradables, presentan una buena conductividad eléctrica y térmica, son flexibles y tienen un gran área superficial y unas propiedades mecánicas excelentes. Todo esto hace que sean buenos candidatos para construir andamiajes que promuevan la regeneración nerviosa [1-4]. Son capaces de simular el ambiente neuronal [4] y permiten, además, aumentar la migración de las células de Schwann y el crecimiento axonal en muchos casos sin necesidad de añadir proteínas promotoras del crecimiento [1]. Cabe mencionar también que su morfología cilíndrica se asemeja a la de las dendritas neuronales distales [5]. Todo esto hace que los andamiajes de CNTs puedan utilizarse para promover la tasa de crecimiento de los axones, además de que son capaces de dirigir una organización anisotrópica de estos a través de estimulación eléctrica y señales de contacto que actúan como guías [6].

Diferencias en aspereza, carga, polaridad y composición química en los andamiajes de CNTs pueden alterar la afinidad de las neuronas que han de adherirse a ellos [1]. Por otro lado, aunque los CNTs son en primera instancia

insolubles en la mayoría de disolventes acuosos, puede realizarse la “funcionalización” química de su superficie mediante la adición de distintos grupos funcionales que modificarán su comportamiento [2,6]. Gracias a esto se puede aumentar la capacidad de dispersión de los CNTs en medios acuosos, lo que supone una mejora a la hora de emplearlos en ambientes fisiológicos [2]. También abre la posibilidad de permitir la administración local de moléculas y proteínas promotoras de crecimiento [6] o péptidos sintéticos diseñados para mejorar sus capacidades [4].

Los CNTs, además de ofrecer unas propiedades atractivas, poseen unas dimensiones y características estructurales que las asemejan a elementos de la maquinaria neural, como podrían ser canales de iones, proteínas de señalización o elementos del citoesqueleto. Estas particularidades resultan ventajosas para los CNTs, ya que refuerzan las interacciones a nivel molecular entre estos y las células, lo que mejora el control sobre la actividad fisiológica y el procesamiento de la información neuronal [2].

3. ¿CÓMO AYUDAN A REGENERAR NEURONAS?

En los últimos años, el interés por el uso de los CNTs como sustratos para el crecimiento neuronal ha aumentado, debido a su capacidad de integrarse con las neuronas, promoviendo sus funciones y facilitando la recuperación de conexiones perdidas entre estas células. Se ha determinado que distintas modificaciones químicas de la superficie de los CNTs pueden afectar al patrón de crecimiento de las neuritas, así como a propiedades de estas como su longitud o las ramificaciones que generen [2]. Se ha determinado que CNTs cargados positivamente promueven la aparición de ramificaciones en comparación con aquellos funcionalizados con grupos con carga negativa o neutra, mientras que sustratos con una conductividad reducida tienden a inducir una mayor longitud de las neuritas. Por tanto, modificar la conductividad y la carga superficial que presenten los CNTs es esencial para regular el tipo de crecimiento que quiera estimularse, y esto explica al mismo tiempo la variabilidad existente entre los resultados de diversos estudios [5].

Se han planteado dos estrategias para la regeneración de las conexiones axonales perdidas: lograr que los propios axones vuelvan a crecer y/o reorganizar el circuito neuronal. En ambos casos, es necesaria la presencia de neuronas para conseguir que se dé el crecimiento, además de que ha de promoverse la plasticidad del tejido una vez que se ha logrado la reconexión celular. Es por esto que, en algunos de los tratamientos actualmente en estudio, se ha propuesto la utilización de células madre neurales (CMNs) para promover la recuperación del tejido, ya que estas presentan el potencial de diferenciarse a los distintos tipos de células que componen el sistema nervioso (neuronas, astrocitos, oligodendrocitos, etc.). Estas CMNs han demostrado ser biocompatibles con un sustrato de CNTs [2], lo que abre las puertas a la utilización de este sistema para la regeneración neural incluso en aquellas situaciones donde se hayan perdido células nerviosas. En este sentido, se han realizado estudios para comprobar la

capacidad regenerativa de una combinación de CNTs y CMNs en una región infartada del corazón en rata. Aunque se describió una reducción de la reacción gliótica en la zona dañada y un aumento de marcadores neuronales, no logró obtenerse una mejor recuperación funcional en este caso [5], lo que indica que aún son necesarios más estudios para reconducir la neurorregeneración *in vivo* empleando CMNs en combinación con CNTs.

A día de hoy aún no se ha determinado cómo los CNTs promueven exactamente la regeneración de la red funcional de las neuronas y el restablecimiento de la sinapsis [2], pero se han llevado a cabo numerosos estudios que ponen de manifiesto esta capacidad. *In vitro* se ha logrado el crecimiento de neuronas del hipocampo, de los ganglios de la raíz dorsal, del cerebro y del córtex, además de varias líneas celulares similares a neuronas (PC-12, NG108, Neuro2a y SH-SY5Y), en sustratos con CNTs en distintas configuraciones. En estos casos estudiados, además de promover el crecimiento neuronal, los CNTs también lograron controlar la dirección de este crecimiento (Figura 2) [6].

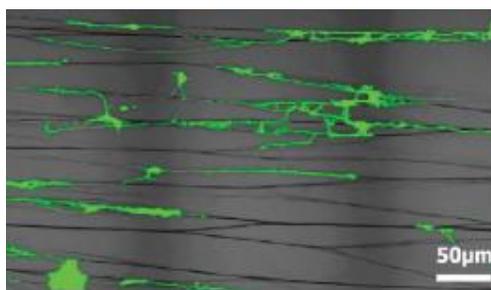


Fig. 2. Micrografía inmunofluorescente mostrando el crecimiento direccional estimulado por contacto de neuritas sobre hilos de CNTs. Imagen obtenida de [4].

Sin embargo, el uso de CNTs como andamiajes para promover la neurorregeneración no es la única aplicación en consideración. Aprovechando las propiedades ventajosas que poseen y la posibilidad de lograr solubilizarlos en medios acuosos gracias a la adición de grupos funcionales, se ha propuesto el diseño de formas solubles de estos nanotubos. De esta manera, los CNTs podrían ser internalizados por las neuronas y regular su actividad, estimulando su crecimiento desde dentro [5]. Sobre esto se han realizado estudios *in vivo* en rata con lesiones en la médula espinal, y el uso de CNTs solubles funcionalizados con polietilenglicol es capaz de permitir la regeneración axonal en la lesión y de promover, además, la recuperación funcional de este. En el sistema nervioso periférico, conductos de CNT y microfibras de cristal han logrado promover el crecimiento de axones e inervaciones musculares en lesiones del nervio ciático [2,3,5].

Por otro lado, se está estudiando también el efecto de combinar los CNTs con moléculas biológicamente activas que puedan promover la elongación y la activación de rutas de señalización intracelular que dirigen la diferenciación. De momento, los resultados de esta combinación son positivos, obteniéndose efectos sinérgicos entre las ventajas provistas por los CNTs y las que dependen de las

moléculas bioactivas [4].

4. ¿PRESENTAN ALGÚN PROBLEMA?

Ocasionalmente, los CNTs pueden generar problemas de biocompatibilidad que dependen del tipo y la dosis de nanotubos que se utilice y cuáles sean las células diana [4]. Esto es especialmente reseñable en el caso de CNTs no funcionalizados, que reducen la viabilidad celular y pueden llegar a ocasionar una respuesta inflamatoria. Además, pueden llegar a agregarse mediante interacciones de van der Waals [7]. Sin embargo, existen formas de evitar estas trabas, como puede ser la funcionalización de los CNTs para modificar la carga superficial o unir moléculas bioactivas, reduciendo así sus efectos nocivos y pudiendo llegar incluso a eliminarlos por completo [4,7].

En determinados sustratos, los CNTs quedan directamente expuestos en la superficie, y las interacciones con el tejido pueden hacer que se desprendan, liberándose al fluido intersticial y pudiendo incluso llegar a la sangre, haciendo por tanto que dejen de ejercer su función promoviendo la neurorregeneración [1].

Existen otros materiales que estimulan más eficientemente el crecimiento de neuritas y que actualmente se utilizan preferentemente, como la laminina. Sin embargo, recientemente se ha propuesto la funcionalización de CNTs con laminina, lo que conseguiría una mayor potenciación del crecimiento junto con las ventajas que los CNTs aportan, aunque aún hacen falta estudios más exhaustivos para caracterizar estos nanotubos [6].

Por otro lado, los andamiajes tradicionales de CNTs se han venido fabricando utilizando sustratos duros, no poliméricos y no biodegradables como el cristal o la silicona, empleando para ello técnicas como la fotolitografía o la deposición química de vapor. El problema de estos sustratos es que presentan incompatibilidad *in vivo* con los tejidos, llegando incluso a causar compresión nerviosa debido a su rigidez. Actualmente se ha planteado resolver este problema empleando matrices de polímero blando como la matriz de quitosano, alineando los CNTs dentro de dicha matriz, confiriéndole así una conductividad eléctrica anisotrópica. Sin embargo, conseguir este alineamiento resulta complicado, ya que son necesarias técnicas que someten a la matriz a temperaturas y agentes químicos que esta no resiste bien [1].

La variabilidad al manufacturar los CNTs constituye también un problema a la hora de contemplar la utilización de estos nanomateriales en aplicaciones biomédicas. Pueden generarse lotes con diferentes características morfológicas, estructurales y químicas e incluso con diferentes grados de impurezas con relativa facilidad, lo que tendría un impacto en la toxicidad de los nanotubos, así como en su farmacocinética y su funcionalidad. Para prevenir esto, se debería estandarizar una forma de producción que no admita variaciones para poder homogeneizar los resultados y ayudar a la extrapolación de estos entre unos estudios y otros [6].

5. CONCLUSIONES

Aunque todavía faltan por abordar cómo las diferentes particularidades de los CNTs afectan al crecimiento de las neuronas y hasta qué punto son realmente biocompatibles, características como su fuerza, su conductividad eléctrica y sus propiedades de regeneración axonal hacen que estén en el punto de mira de la neuroingeniería. Aún es pronto para establecer el impacto de los CNTs en el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso, pero los estudios realizados en modelos animales e *in vitro* han demostrado de manera indiscutible que este nanomaterial promueve la neurregeneración, lo que lo convierte en una herramienta potencial que podría alcanzar aplicación clínica en un futuro próximo. Una vez se solventen las dudas que existen sobre su posible toxicidad, su degradación y la seguridad de su uso, los CNTs se alzarán como una de las herramientas más prometedoras para abordar la neuroregeneración.

Aun así, no hay que olvidar que es solo cuestión de tiempo que surjan más tecnologías con el objetivo de recuperar funciones de forma sistémica, dado que hay multitud de estudios en la actualidad abordando aplicaciones biomédicas de los nanomateriales, ya no solo a nivel del sistema nervioso. Es en este punto donde se plantea la cuestión de la cobertura legal de estas potenciales aplicaciones, por lo que no hay únicamente que depurar las trabas clínicas intrínsecas de estos nuevos sistemas, sino también lograr definir los límites legales de lo que puede conseguirse con la nanotecnología aplicada al ámbito de la biomedicina.

REFERENCIAS

- [1] Gupta, P. and Lahiri, D. 2016. Aligned carbon nanotube containing scaffolds for neural tissue regeneration. *Neural Regeneration Research*, 11, 1062-3. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.187028>
- [2] Nunes, A., Al-Jamal, K., Nakajima, T., Hariz, M. and Kostarelos, K. 2012. Application of carbon nanotubes in neurology: Clinical perspectives and toxicological risks. *Archives of Toxicology*, 86, 1009-20. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0860-0>
- [3] Das, S., Carnicer-Lombarte, A., Fawcett, J.W. and Bora, U. 2016. Bio-inspired nano tools for neuroscience. *Progress in Neurobiology*, Elsevier Ltd. 142, 1-22. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.04.008>
- [4] Scapin, G., Salice, P., Tescari, S., Menna, E., De Filippis, V. and Filippini, F. 2015. Enhanced neuronal cell differentiation combining biomimetic peptides and a carbon nanotube-polymer scaffold. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, Elsevier Inc. 11, 621-32. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2014.11.001>
- [5] Fabbro, A., Prato, M. and Ballerini, L. 2013. Carbon nanotubes in neuroregeneration and repair. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Elsevier B.V. 65, 2034-44. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.07.002>
- [6] Oprych, K.M., Whitby, R.L.D., Mikhalovsky, S. V., Tomlins, P. and Adu, J. 2016. Repairing Peripheral Nerves: Is there a Role for Carbon Nanotubes? *Advanced Healthcare Materials*, 5, 1253-71. <https://doi.org/10.1002/adhm.201500864>

- [7] John, A.A., Subramanian, A.P., Vellayappan, M.V., Balaji, A., Mohandas, H. and Jaganathan, S.K. 2015. Carbon nanotubes and graphene as emerging candidates in neuroregeneration and neurodrug delivery. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 4267-77. <https://doi.org/10.2147/IJN.S83777>



Ana Sánchez Molina realizó el Grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide y se encuentra actualmente cursando el Máster en Biotecnología Sanitaria.