



DOI 10.56618/20712693_2022_14_3_140

НАПРАВЛЕНИЯ ВОЗМОЖНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГРАФЕНА В НЕВРОЛОГИИ И НЕЙРОХИРУРГИИ

С. В. Воробьев^{1,2,3}, К. И. Терновых^{1,2}, А. А. Лебедев², А. Н. Смирнов²,
А. С. Усиков^{2,4}, С. П. Лебедев²

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» МЗ РФ,
Аккуратова ул., 2, Санкт-Петербург, 197341

² ФГБУН «Физико-технический институт имени А. Ф. Иоффе» Минобрнауки России,
Политехническая ул., 26, Санкт-Петербург, 194021

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
МЗ РФ, Литовская ул., 2, Санкт-Петербург, 194100

⁴ ООО «Нитридные кристаллы — Алюминий-N», Энгельса пр., 27/5А, Санкт-Петербург, 194156

РЕЗЮМЕ. В настоящее время наблюдается широкое внедрение в клиническую практику инновационных методик с использованием нанотехнологий. Одним из перспективных материалов, представляющих научно-практический интерес для медицинской науки, является графен — аллотропная модификация углерода, обладающая рядом специфических физических свойств. Нами проведен анализ результатов исследований по данной проблеме. Имеющиеся в литературе сведения говорят о высоких перспективах его использования в нейронауках. Установлены основные направления внедрения графена в неврологию и нейрохирургию. Разработка технологических приемов с использованием графена будет способствовать появлению новых эффективных методов диагностики и терапии, качественно повышающих уровень ведения пациентов с заболеваниями и травмами нервной системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: графен, болезнь Альцгеймера, нейроонкология, бета-амилоид, биологические сенсоры, наноплатформы.

Для цитирования: Воробьев С. В., Терновых К. И., Лебедев А. А., Смирнов А. Н., Усиков А. С., Лебедев С. П. Направления возможного использования графена в неврологии и нейрохирургии. *Российский нейрохирургический журнал им. проф. А. Л. Поленова.* 2022;14(3):140–145. DOI 10.56618/20712693_2022_14_3_140

DIRECTIONS OF POSSIBLE USE OF GRAPHENE IN NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

S. V. Vorobev^{1,2,3}, I. K. Ternovyyh^{1,2}, A. A. Lebedev², A. N. Smirnov², A. S. Usikov^{2,4}, S. P. Lebedev²

¹ Almazov National Medical Research Centre, Akkuratova st., 2, Saint-Petersburg, 197341, Russia

² Ioffe Institute, Politekhnikeskaya st., 26, Saint Petersburg, 194021, Russia

³ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Litovskaya st. 2, Saint Petersburg, 194100, Russia

⁴ Nitride Crystals Aluminum-N, Engels Avenue, 27/5A, Saint Petersburg, 194156, Russia

RESUME. Currently, there is a widespread introduction into clinical practice of innovative techniques using nanotechnology. One of the promising materials of scientific and practical interest for medical science is graphene, an allotropic modification of carbon with a number of specific physical properties. We have analyzed the results of research on this problem. The information available in the literature indicates high prospects for its use in neuroscience. The main directions of graphene introduction into neurology and neurosurgery have been established. The development of technological techniques using graphene will contribute to the emergence of new effective methods of diagnosis and therapy, qualitatively increasing the level of management of patients with diseases and injuries of the nervous system.

KEYWORDS: graphene, Alzheimer's disease, neurooncology, beta-amyloid, biological sensors, nanoplatforms.

For citation: Vorobev S. V., Ternovyyh I. K., Lebedev A. A., Smirnov A. N., Usikov A. S., Lebedev S. P. Directions of possible use of graphene in neurology and neurosurgery. *Rossiiskii neirokhirurgicheskii zhurnal imeni professora A. L. Polenova.* 2022;14(3):140–145. DOI 10.56618/20712693_2022_14_3_140

Введение. Достижения научно-технического прогресса регулярно находят свое применение в различных сферах жизни и деятельности человека. Не является исключением и медицинская специальность. Значительную роль при этом играют разработки в области нанотехнологий. Вещества, полученные с их

помощью, используются с целью попытки создания высокоэффективных средств диагностики и терапии различных заболеваний, в том числе связанных с поражением нервной системы. Одним из перспективных наноматериалов, в настоящее время активно исследуемых, является графен. Он представляет собой

аллотропную разновидность углерода, состоящую из одноатомной двумерной гексагональной кристаллической решетки. Вследствие своей специфической пространственной геометрии графен обладает рядом уникальных свойств, к которым относятся большая подвижность носителей заряда, высокая электро- и теплопроводность, механическая стойкость, химическая стабильность и биосовместимость, низкий уровень шумов и ряд других. Совокупность этих качеств предопределяет попытки исследователей разработать новые технологические решения с использованием графена для внедрения в практику ведения больных неврологического профиля.

Методика изготовления графена. Нашей исследовательской группой освоен метод получения графеновых пленок при термическом разложении поверхности полуизолирующих подложек карбида кремния (SiC). В основе данного метода лежит физический процесс сублимации, при котором поверхность кристалла SiC, нагретого до высоких температур, разлагается на газообразные компоненты Si, SiC, Si₂C, SiC₂ и твердую фазу C [1]. Оставшиеся на поверхности кристалла атомы углерода самоорганизуются в кристаллическую решетку графена. Контроль параметров нагрева подложки SiC позволяет получать однородные монослойные графеновые покрытия. Для реализации данного метода применяются подложки 4H-SiC с кристаллографической ориентацией рабочей грани (0001)±0,25°. Нами используются образцы размером 11×11 мм². Процесс выращивания графена проводится при температуре 1750±20 °С в атмосфере аргона с давлением 750±20 Торг [2]. Присутствие монослоя графена на подложке SiC подтверждается по спектрам комбинационного рассеяния света [3].

Топология чипов прямоугольной формы на поверхности пластинки графен/SiC формируется методом лазерной фотолитографии в сочетании с ионно-реактивным травлением в аргоне и травлением в кислородной плазме. Контакты Ti/Au (5 нм/50 нм) создаются вакуумным напылением и взрывной фотолитографией. После процессирования пластинки графен/SiC нарезаются на чипы размером 1,5×2 мм и монтируются на держателе из текстолита, развариваются золотыми проводками. Затем токоведущие части держателя и контактные площадки чипа покрываются защитным лаком. Сенсорная площадь поверхности графена в чипе составляет 1×1,5 мм.

Функционализация графена. Одним из направлений использования графена в медицинской практике является разработка биологических сенсоров на его основе. Отличительной особенностью пленки графена является то, что адсорбируемые на ее поверхности молекулы или группы атомов действуют как донор или акцептор, приводя к изменению электронного состояния (сопротивления), которое можно зарегистрировать. При этом такой биочип реагирует изменением сопротивления даже при контакте с исчезающе малыми концентрациями искомого вещества. Таким образом, чувствительность данного

метода в значительной степени превышает возможности применяющихся сегодня в стандартной лабораторной диагностике методов исследования [4]. При этом необходимо отметить, что графеновые пленки, используемые для изготовления сенсоров не обладают селективной чувствительностью. Для придания им свойства избирательно определять то, или иное вещество необходимо осуществить так называемую функционализацию поверхности [5,6]. Такая обработка создает дополнительные ковалентные связи и повышает избирательность (селективность) химических реакций. С помощью этой процедуры на поверхности графена иммобилизируются специфические антитела, комплементарные искомому антигену (белку). Это позволяет провести как качественный анализ, так и количественный анализ.

При изготовлении биосенсора пленка графена подвергается многостадийной обработке: процессированию графенового чипа, формированию топологии контактов и сенсорной области, функционализации поверхности и нанесению на поверхность антитела для последующей детекции специфических антигенов [7,8,9]. В нашей работе процесс функционализации поверхности графена в чипе осуществляется в два этапа путем создания ковалентных связей при нанесении нитрофениловых групп (нитробензол, C₆H₄NO₂) и их последующего восстановления до феноламинных групп (аминобензол C₆H₄NH₂) с применением метода циклической вольтамперометрии [5]. При этом происходит ион-радикальная реакция прикрепления нитро-фенила-радикала (ph-NO₂) к графену с потерей азота (N₂) и изменением типа гибридизации с sp² на sp³.

Электрохимическая реакция между поверхностью графена в чипе и безводным электролитом (нанесением нитрофениловых групп) проводится в ячейке, делающейся на основе колбы с герметической крышкой, позволяющей продувать электролит и пространство над ним чистым и сухим (без паров воды) инертным газом аргоном (Ar). Крышка позволяет герметично уплотнить все электроды, а также шток с зажимом, к которому прикреплялся держатель с графеном. Продувка Ar обеспечивает удаление следов влаги окружающего воздуха. Во время продувки чип находится над поверхностью электролита. Графеновый чип опускается в электролит только на время проведения процесса присоединения нитрофениловых групп на 1–2 минуты. Процесс проводится по трех-электродной схеме. Поверхность графена в чипе является рабочим электродом, контрольным электродом служит пластинка платины, электродом сравнения — серебряная проволока (Ag/Ag⁺).

Реакция присоединения нитрофениловых групп контролируется по изменению тока при циклировании потенциала на рабочем электроде (на графене) от 0 мВ до –600 мВ и обратно. Уменьшение тока при каждом последующем цикле свидетельствует о завершении реакции на поверхности рабочего электрода. Используются 3 цикла, до уменьшения тока более

чем на порядок-два. Затем образцы ополаскиваются в ацетонитриле и высушиваются. Рисунок 1(а) показывает типичный вид кривой циклической вольтамперометрии (ЦВА) при нанесении нитрофениловых групп на поверхность графена.

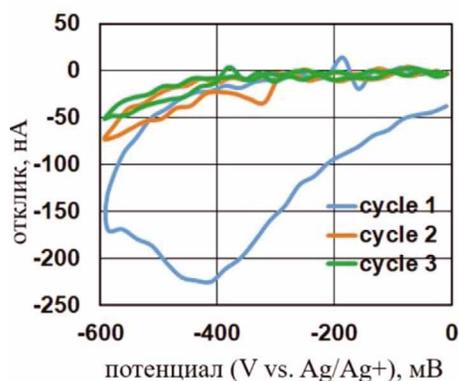
Второй этап функционализации включает восстановление присоединенных к графену нитрофениловых групп в фенил-аминные ($C_6H_4NH_2$) методом ЦВА, но в водном растворе 0,1М КСl и этилового спирта (9:1) в открытой колбе также по трехэлектродной схеме. Electroдами являются: стандартный хлорсеребряный электрод сравнения (Ag/AgCl) Эср-10101, поверхность графена в чипе образует рабочий электрод (катод), и в качестве контр-электрод выступают платиновые пластинки. При этом процесс проходит при циклировании потенциала три раза на рабочем электроде (поверхность графена в чипе) от 0 мВ до -1000 мВ и обратно. После процесса образцы промываются в деионизованной воде и сушатся в аргоне. Рисунок 1(б) показывает типичный вид кривой ЦВА на втором этапе функционализации графена в чипе.

Предполагается, что область положительных потенциалов на рисунке 1(а) может привести к частичному окислению графена, что в свою очередь будет способствовать возникновению дополнительных ковалентных связей на поверхности графена для иммобилизации антител белков.

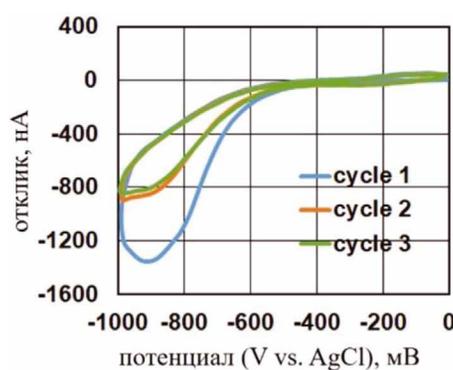
Исследования по внедрению биологических сенсоров на основе графена. В настоящее время проводятся работы, направленные на разработку графеновых сенсоров, обладающих диагностическим значением в нейроонкологии [10]. При этом становится возможным проводить детекцию циркулирующих опухолевой ДНК, микроРНК, экзосом в сыворотке крови, зачастую имеющих в ней достаточно низкие концентрации. Данное решение может предоставить важную информацию как с позиций ранней диагностики рака, так и определения метастазов опухоли, а также мониторинга послеоперационных рецидивов [11]. Так разработан графеновый биосенсор проводящий

детекцию метилированного гена O-6-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы, являющейся потенциальным биомаркером глиобластомы головного мозга [12]. В другом исследовании была предпринята успешная попытка изготовления графенового сенсора для определения матриксной металлопротеазы-1, в ходе которого установлена линейная зависимость показателей вольтамперометрии от концентрации фермента в сыворотке крови, а также культуре клеток [13].

Ряд работ посвящен изучению возможности определения содержания в биологических средах биомаркеров, играющих важное значение в диагностике болезни Альцгеймера. Показана принципиальная возможность определения белков β -амилоида и τ -протеина в сыворотке крови пациентов с нейродегенеративной деменцией. При этом диапазон чувствительности сенсоров составлял от 100 фемтограмм до 10 мкг на 1 мл для белка β -амилоида и от 100 фемтограмм до 1 мкг на 1 мл для τ -белка [14]. Также осуществлена успешная попытка количественной детекции в сыворотке крови β -секретазы, играющей ключевую роль в реализации амилоидогенного постпроцессингового протеолиза белка APP [15]. С учетом того, что растворимые олигомеры β -амилоида обладают большим нейротоксическим действием по сравнению с нерастворимыми агрегатами и их накопление лучше коррелирует с тяжестью заболевания, их детекция в ликворе представляет достаточно важную клиническую и научную задачу. Для этих целей на основе графена разработан биосенсор, имеющий в своем составе пептидный зонд с тиолированным клеточным прионным белком (PrP^C), проявляющим высокую степень сродства именно с олигомерами β -амилоида. Он продемонстрировал высокую чувствительность и специфичность, позволяя определять олигомеры в концентрации от 0,1 пг до 10 нг [16]. Также осуществляются исследования, направленные на создание сенсоров, способных проводить определение других биомаркеров, способных сыграть роль в диагностике болезни Альцгеймера [17,18].



(а)



(б)

Рисунок 1. Кривые ЦВА процесса функционализации поверхности графена в чипе. Исходное сопротивление чипа 1,6 кОм. Скорость сканирования потенциала 100 мВ/с. По оси абсцисс — потенциал на рабочем электроде, по оси ординат — ответ; (а) нанесении нитрофениловых групп (нитробензол, $C_6H_4NO_2$). Потенциал на рабочем электроде графене циклировался три раза в диапазоне от 0 мВ до -600. Сопротивление чипа по окончании процесса 5,8 кОм.

(б) восстановление присоединенных к графену нитрофениловых групп в фенил-аминные ($C_6H_4NH_2$). Потенциал на рабочем электроде графене циклировался три раза в диапазоне от 0 мВ до -600. Сопротивление чипа 2,5 кОм.

Базовые платформы для доставки лекарственных средств. Еще одной сферой перспективного применения графена является изготовление наноплатформ, которые будут играть роль «трансферов» — элементов, облегчающих доставку лекарственных препаратов к топическому очагу поражения, например при онкологии. Это направление интересно с учетом того, что на пути к центральной нервной системе находится гематоэнцефалический барьер, затрудняющий проникновение терапевтических средств в ткани головного мозга. На сегодняшний день описаны два потенциальных варианта направленной доставки лекарственных препаратов к пораженным тканям с помощью наноматериалов. Первый, так называемый «пассивный» вариант основан на обнаруженной способности наночастиц благодаря своим малым размерам проявлять повышенную диффузию через пораженное сосудистое русло, благодаря чему они приобретают возможность более эффективного поглощения опухолью. Данный феномен получил название эффекта повышенной проницаемости и удержания [19]. Второй «активный» вариант основан на возможности прикрепления к графену определенных белков и антител, специфических к опухоли, что делает возможным адресную доставку лекарственного препарата [20]. Так в одном из исследований продемонстрирована способность графеновой платформы обеспечить создание высокой концентрации конъюгированного с ней паклитаксела в тканях головного мозга при экспериментальной глиобластоме, воспроизведенной на мышах [21]. В другом эксперименте установлено, что комплексы на основе графена эффективно доставляют антисмысловые микроРНК в культуру клеток глиобластомы, обеспечивая отрицательную экспрессию ее генов [22]. Также интересным представляется попытка использования графена для визуализации опухолевых клеток. Она основана на свойстве оксида графена проявлять флуоресцентное свечение при облучении видимым светом в условиях изменения рН среды. Так в эксперименте было установлено уменьшение соотношения зеленой / красной флуоресценции в культуре раковых клеток по сравнению со здоровыми клетками [23].

Графен и фототермическая терапия. Следующим направлением, в котором предпринимаются попытки использования графена, является фототермическая терапия. Ее эффект основан на способности фотосенсибилизирующих агентов выделять тепло при поглощении света. Наиболее оптимальным является использование веществ, обладающих высоким поглощением в ближнем инфракрасном диапазоне. Это позволяет избежать нагрева здоровых клеток в связи с практически полным отсутствием их способности сенсибилизировать свет в этом спектре. Именно к таким агентам относится графен. Возможности использования графена в качестве агента фототермической терапии обусловлены также способностью последнего хорошо проникать через гематоэнцефалический барьер [24]. Так в одном из исследований,

была разработана многофункциональная наноплатформа, включавшая графеновые квантовые точки и доксорубин, инкапсулированные в гомотипичной раковой клеточной мембране. Данная платформа продемонстрировала *in vitro* высокую тропность к клеткам глиомы, и большую их загрузку как препаратом, так и графеном, что способствовало эффективной комплексной химио-фототермической терапии [25]. Аналогичный подход был использован в терапии экспериментальной болезни Альцгеймера. На животной модели графен, функционализированный с тиофлавином, способным связываться с амилоидными фибриллами, после эндолумбального введения с последующим облучением лазером длиной волны 808 нм показал способность уменьшать количество амилоидных бляшек в головном мозге мыши [26].

Использование графена в качестве подложки для стимуляции нейрогенеза. В настоящее время проведен ряд исследований, продемонстрировавших возможность использования графена для стимуляции роста и дифференцировки стволовых клеток. Основу этого феномена составляет, с одной стороны, способность графеновой подложки выступать в качестве биосовместимого каркаса, обеспечивающего закрепление и направленную пролиферацию стволовых клеток. С другой стороны, наличие нековалентных связей обеспечивает концентрацию трофических факторов и ускорение роста и дифференцировки соответствующих клеточных линий. Так в эксперименте была показана возможность развития зрелых нейронов из человеческих стволовых нейрональных клеток на подложке графена в присутствии «питательного» состава, состоящего из основного фактора роста фибробластов и эпидермального фактора роста [27]. В другом исследовании установлено достоверное увеличение количества нейронов и длины их отростков при инкубации культуры клеток гиппокампа мыши на графеновой подложке по сравнению с выращиванием на полистерольном субстрате [28]. При этом удается добиться развития нейронов не только в двухмерной плоскости, но и придать им 3D-архитектуру, характерную для живой ткани. Такой подход становится возможным благодаря применению трехмерных нановолокон, имеющих графеновое покрытие, что позволяет обеспечить внедрение графеновых конструкций непосредственно в место повреждения нервной ткани [29]. Дополнительным фактором, благоприятно влияющим на стимуляцию дифференцировки нейронов, будет являться электрическая стимуляция, которая обеспечивается высокой электропроводностью графена. Было установлено, что размещение графеновых нановолокон в культуре клеток с последующей электростимуляцией обеспечивает развитие и рост первичных мотонейронов [30]. На основании имеющихся данных методом 3D-печати были разработаны так называемые графеновые чернила, которые обладая упругостью сопоставимой с нервной тканью спинного мозга хорошо имплантировались хирургическим путем в организм

и были достаточно безопасны. На их основе разрабатывается способ проведения направленной регенерации нервной ткани с сохранением пространственной геометрии окружающих структур [31].

Заключение. Таким образом, необходимо отметить, что графен и материалы, полученные на его основе, достаточно активно изучаются в рамках проблем нейронаук. Выполненные на сегодняшний день исследования убедительно доказывают необходимость его дальнейшего внедрения в научную работу с последующими перспектива освоения в повседневной клинической практике. При этом, полученные результаты демонстрируют возможности многостороннего использования графена в неврологии и нейрохирургии. На его основе возможна разработка как принципиально новых методов верификации, так и способов терапии актуальных, социально значимых заболеваний. Это позволит поднять лечебно-диагностические мероприятия на более высокий уровень, улучшит исходы ряда заболеваний нервной системы, повысит реабилитационный потенциал и положительно скажется на качестве жизни больных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

Работа поддержана грантом РФФИ № 22-12-00134. The work was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 22-12-00134.

ORCID авторов / ORCID of authors

Воробьев Сергей Владимирович / Vorobev Sergej Vladimirovich <https://orcid.org/0000-0002-4830-907X>

Терновых Иван Константинович / Ternovyyh Ivan Konstantinovich <https://orcid.org/0000-0002-0074-4021>

Лебедев Александр Александрович / Lebedev Aleksandr Aleksandrovich <https://orcid.org/0000-0003-0829-5053>

Смирнов Александр Николаевич / Smirnov Aleksandr Nikolaevich <https://orcid.org/0000-0001-9709-5138>

Усиков Александр Сергеевич / Usikov Aleksandr Sergeevich <https://orcid.org/0000-0002-5320-3632>

Лебедев Сергей Петрович / Lebedev Sergej Petrovich <https://orcid.org/0000-0002-5078-1322>

Литература/References

- Drowart J., De Maria G., Inghram M. G. Thermodynamic Study of SiC Utilizing a Mass Spectrometer. *J. Chem. Phys.* 1958;29:1015–1021. <https://doi.org/10.1063/1.1744646>
- Lebedev S. P., Amel'chuk G., Eliseyev I. A., Nikitina I. P., Dementev P. A., Zubov A. V., Lebedev A. A. Comparison of graphene films grown on 6h-sic and 4h-sic substrates. *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures.* 2020;28(4): 321–324. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1697684>
- Давыдов В. Ю., Усачёв Д. Ю., Лебедев С. П., Смирнов А. Н., Левицкий В. С., Елисеев И. А., Алексеев П. А., Дунаевский М. С., Вилков О. Ю., Рыбкин А. Г., Лебедев А. А. Исследование кристаллической и электронной структуры графеновых пленок, выращенных на 6h-sic (0001) *Физика и техника полупроводников.* 2017;(51/8):1116–1124. [Davydov V. Yu., Usachyov D. Yu., Lebedev S. P., Smirnov A. N., Levickij V. S., Eliseev I. A., Alekseev P. A., Dunaevsij M. S., Vilkov O. Yu., Rybkin A. G., Lebedev A. A. Investigation of the crystal and electronic structure of graphene films grown on 6h-sic (0001). *Fizika i tekhnika poluprovodnikov.* 2017;(51/8):1116–1124. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21883/FTP.2017.08.44800.8559>.
- Воробьев С. В., Янишевский С. Н., Емелин А. Ю., Лебедев А. А., Лебедев С. П., Макаров Ю. Н., Усиков А. С., Клотченко С. А., Васин А. В. Перспективы применения биологических сенсоров на основе графена в ранней диагностике болезни Альцгеймера (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022;67(1):5–12. [Vorobev S. V., Yanishevskij S. N., Emelin A. Yu., Lebedev A. A., Lebedev S. P., Makarov Yu. N., Usikov A. S., Klotchenko S. A., Vasin A. V. Prospects for the use of graphene-based biological sensors in the early diagnosis of Alzheimer's disease (literature review). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2022;67(1):5–12. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-1-5-12>
- Georgakilas V., Otyepka M., Bourlinos A. B., Chandra V., Kim N., Kemp K. C., Hobza P., Zboril R., Kim K. S. Functionalization of graphene: covalent and non-covalent approaches, derivatives and applications. *Chem. Rev.* 2012;112:6156–6214. <https://doi.org/10.1021/cr3000412>.
- Tehrani Z., Burwell G., Mohd Azmi M. A., Castaing A., Rickman R., Almarashi J., Dunstan P., Miran Beigi A., Doak S. H., Guy O. J. Generic epitaxial graphene biosensors for ultrasensitive detection of cancer risk biomarker. *2D Materials.* 2014;1(025004):1–19. <https://doi.org/10.1088/2053-1583/1/2/025004>
- Лебедев А. А., Давыдов В. Ю., Новиков С. Н., Литвин Д. П., Макаров Ю. Н., Климович В. Б., Самойлович М. П. Биосенсоры на основе графена. *Письма в журнал технической физики.* 2016;42(14):28–35. [Lebedev A. A., Davydov V. Yu., Novikov S. N., Litvin D. P., Makarov Yu. N., Klimovich V. B., Samojlovich M. P. Graphene-based biosensors. *Pis'ma v zhurnal tekhnicheskoy fiziki.* 2016;42(14):28–35. (In Russ.)].
- Smith A. D., Elgammal K., Niklaus F., Delin A., Fischer A. C., Vaziri S., Forsberg F., Räsander M., Hugosson H., Bergqvist L., Schröder S., Kataria S., Östlinga M., Lemme M. C., Resistive graphene humidity sensors with rapid and direct electrical readout. *Nanoscale.* 2015;7:19099. <https://doi.org/10.1039/C5NR06038A>
- Lebedev S., Usikov A., Novikov S., Shabunina E., Schmidt N., Barash I., Roenkov A., Lebedev A., Makarov Y., Graphene/SiC functionalization for blood type sensing applications. *Materials Science Forum.* 2018;924:909. <https://doi.org/3.4028/www.scientific.net/MSF.924.909>
- Iannazzo D., Espro C., Celesti C., Ferlazzo A., Neri G. Smart Biosensors for Cancer Diagnosis Based on Graphene Quantum Dots. *Cancers (Basel).* 2021;13(13):3194. <https://doi.org/10.3390/cancers13133194>

11. Chen S. L., Chen C. Y., Hsieh J. C., Yu Z. Y., Cheng S. J., Hsieh K. Y., Yang J. W., Kumar P. V., Lin S. F., Chen G. Y. Graphene Oxide-Based Biosensors for Liquid Biopsies in Cancer Diagnosis. *Nanomaterials* (Basel). 2019;9(12):1725. <https://doi.org/10.3390/nano9121725>
12. Safarzadeh M., Suhail A., Sethi J., Sattar A., Jenkins D., Pan G. A Label-Free DNA-Immunosensor Based on Aminated rGO Electrode for the Quantification of DNA Methylation. *Nanomaterials* (Basel). 2021;11(4):985. <https://doi.org/10.3390/nano11040985>
13. Liu X., Lin L. Y., Tseng F. Y., Tan Y. C., Li J., Feng L., Song L., Lai C. F., Li X., He J. H., Sakthivel R., Chung R. J. Label-free electrochemical immunosensor based on gold nanoparticle/polyethyleneimine/reduced graphene oxide nanocomposites for the ultrasensitive detection of cancer biomarker matrix metalloproteinase-1. *Analyst*. 2021;146(12):4066–4079. <https://doi.org/10.1039/d1an00537e>
14. Yu D., Yin Q., Wang J., Yang J., Chen Z., Gao Z., Huang Q., Li S. SERS-Based Immunoassay Enhanced with Silver Probe for Selective Separation and Detection of Alzheimer's Disease Biomarkers. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:1901–1911. <https://doi.org/10.2147/IJN.S293042>
15. Dey J., Roberts A., Mahari S., Gandhi S., Tripathi P. P. Electrochemical Detection of Alzheimer's Disease Biomarker, β -Secretase Enzyme (BACE 1), With One-Step Synthesized Reduced Graphene Oxide. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022;10:873811. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.873811>
16. Sun L., Zhong Y., Gui J., Wang X., Zhuang X., Weng J. A hydrogel biosensor for high selective and sensitive detection of amyloid-beta oligomers. *Int J Nanomedicine*. 2018;13:843–856. <https://doi.org/10.2147/IJN.S152163>
17. Zhu D., Liu B., Wei G. Two-Dimensional Material-Based Colorimetric Biosensors: A Review. *Biosensors* (Basel). 2021;11(8):259. <https://doi.org/10.3390/bios11080259>
18. Park D., Lee D., Kim H. J., Yoon D. S., Hwang K. S. Scalable Functionalization of Polyaniline-Grafted rGO Field-Effect Transistors for a Highly Sensitive Enzymatic Acetylcholine Biosensor. *Biosensors* (Basel). 2022;12(5):279. <https://doi.org/10.3390/bios12050279>
19. Nichols J. W., Bae Y. H. Odyssey of a cancer nanoparticle: from injection site to site of action. *Nano Today*. 2012;7(6):606–618. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2012.10.010>
20. Patel S. C., Lee S., Lalwani G., Suhrland C., Chowdhury SM, Sitharaman B. Graphene-based platforms for cancer therapeutics. *Ther Deliv*. 2016;7(2):101–16. <https://doi.org/10.4155/tde.15.93>
21. Moore T. L., Podilakrishna R., Rao A., Alexis F. Systemic administration of polymer-coated nano-graphene to deliver drugs to glioblastoma. *Part. and Part. Syst. Char*. 2014;31(8):886–894. <https://doi.org/10.1002/ppsc.201300379>
22. Kutwin M., Sosnowska M. E., Strojny-Cieślak B., Jaworski S., Trzaskowski M., Wierzbicki M., Chwalibog A., Sawosz E. MicroRNA Delivery by Graphene-Based Complexes into Glioblastoma Cells. *Molecules*. 2021;26(19):5804. <https://doi.org/10.3390/molecules26195804>
23. Campbell E., Hasan M. T., Pho C., Callaghan K., Akkaraju G. R., Naumov A. V. Graphene Oxide as a Multifunctional Platform for Intracellular Delivery, Imaging, and Cancer Sensing. *Sci Rep*. 2019;9(1):416. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36617-4>
24. Perini G., Palmieri V., Ciasca G., De Spirito M., Papi M. Unravelling the Potential of Graphene Quantum Dots in Biomedicine and Neuroscience. *Int J Mol Sci*. 2020;21(10):3712. <https://doi.org/10.3390/ijms21103712>
25. Ren Y., Miao C., Tang L., Liu Y., Ni P., Gong Y., Li H., Chen F., Feng S. Homotypic Cancer Cell Membranes Camouflaged Nanoparticles for Targeting Drug Delivery and Enhanced Chemophotothermal Therapy of Glioma. *Pharmaceuticals* (Basel). 2022;15(2):157. <https://doi.org/10.3390/ph15020157>
26. Li M., Yang X., Ren J., Qu K., Qu X. Using graphene oxide high near-infrared absorbance for photothermal treatment of Alzheimer's disease. *Adv Mater*. 2012;24(13):1722–8. <https://doi.org/10.1002/adma.201104864>
27. Park S. Y., Park J., Sim S. H., Sung M. G., Kim K. S., Hong B. H., Hong S. Enhanced differentiation of human neural stem cells into neurons on graphene. *Adv Mater*. 2011;23(36):H263–7. <https://doi.org/10.1002/adma.201101503>
28. Li N., Zhang X., Song Q., Su R., Zhang Q., Kong T., Liu L., Jin G., Tang M., Cheng G. The promotion of neurite sprouting and outgrowth of mouse hippocampal cells in culture by graphene substrates. *Biomaterials*. 2011;32(35):9374–9382. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.08.065>
29. Bei H. P., Yang Y., Zhang Q., Tian Y., Luo X., Yang M., Zhao X. Graphene-Based Nanocomposites for Neural Tissue Engineering. *Molecules*. 2019;24(4):658. <https://doi.org/10.3390/molecules24040658>
30. Feng Z. Q., Wang T., Zhao B., Li J., Jin L. Soft Graphene Nanofibers Designed for the Acceleration of Nerve Growth and Development. *Adv Mater*. 2015;27(41):6462–8. <https://doi.org/10.1002/adma.201503319>
31. Jakus A. E., Secor E. B., Rutz A. L., Jordan S. W., Hersam M. C., Shah R. N. Three-dimensional printing of high-content graphene scaffolds for electronic and biomedical applications. *ACS Nano*. 2015;9(4):4636–48. <https://doi.org/10.1021/acs.nano.5b01179>