

Szkodliwość grafenu

Diana Wojtkowiak

Gdańsk, 10 sierpnia 2022

www.torsionfield.eu

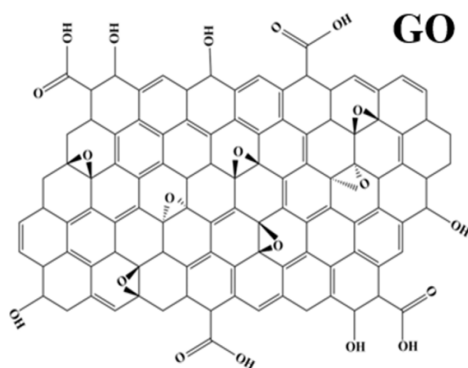
Streszczenie

W pracy opisano wielorakie mechanizmy toksycznego oddziaływania grafenu na organizmy żywe, w tym człowieka, ze szczególnym uwzględnieniem aktywacji białek prionowych lub ich domen, mogących powodować: tworzenie włókien amyloidowych, przecinanie struktur białkowych i DNA oraz nasilanie chorób związanych z białkami prionowymi. Praca związana jest z obecnym procederem wprowadzania grafenu do szczepionek i leków do iniekcji, dokonywanym przez kartel farmaceutyczny.

Grafen

Mimo niewątpliwych zalet grafenu w technologii materiałowej, elektronice i konstruowaniu mikroczujników, jego wykorzystanie w medycynie budzi wiele kontrowersji ze względu na wysoką toksyczność.

Grafen to warstwa grafitu jednoatomowej grubości składająca się z nieokreślonej ściśle ilości atomów węgla tworzących heksagonalną strukturę, w zależności od metody jego uzyskiwania. Często jest to metoda złuszczenia grafitu. Z punktu widzenia chemicznego taka struktura wykazuje właściwości aromatyczne związane z obecnością elektronów π . W zależności od środowiska wytwarzania grafenu w obecności wody część atomów węgla ulega modyfikacji chemicznej, głównie na brzegach plastra, gdzie wskutek łamania warstwy grafitu powstają wolne rodniki węglowe. Wskutek tego powstają modyfikacje grupami karboksylowymi, epitlenkowymi, hydroksylowymi. Od tych modyfikacji pochodzą nazwy grafenu jako formy utlenionej lub zredukowanej, albo też tlenku lub wodorotlenku, co jednak nie odpowiada klasycznemu pojęciu tlenku i wodorotlenku. Na rys. 1 przedstawiona jest przykładowa struktura tlenku grafenu.



Rys. 1. Przykładowa struktura tlenku grafenu ³

Spójrzmy na grafen od strony fizykochemicznej. Powyższy przykładowy wzór chemiczny grafenu pokazuje, że nie ma w nim nic regularnego, modyfikacje są w przypadkowych miejscach, nawet ten pierwotny plaster miodu ze wszystkimi wiązaniami podwójnymi otoczonymi elektronami pi, jaki był w graficie, został zburzony podczas procesu wytwarzania. To cząsteczka obca, nieprzyjazna organizmom żywym. W organizmach żywych wszystko jest przewidywalne. Charakterystyczne cechy substratu reakcji enzymatycznej są rozpoznawane przez enzym z wysoka precyzją, cząsteczki sygnałowe, ściśle określonej budowy są rozpoznawane przez receptory białkowe uruchamiające szlaki sygnałowe. Występujące w grafenie ugrupowania hydroksylowe i karboksylowe są w prawie każdym związku biologicznym. Epitlenki albo inaczej epoksydy są silnie reaktywne. Przykładowo tlenek etylenu stosuje się do sterylizacji materiałów i narzędzi chirurgicznych. Epitlenki w organizmach występują rzadko, np w niektórych cząsteczkach sygnałowych. Możemy się więc spodziewać, że tlenek grafenu jest bardziej toksyczny niż grafen zredukowany. I tak rzeczywiście jest, co pokazuje wiele doświadczeń. A więc jedyną charakterystyczną cechą modyfikowanego grafenu jest, że jest duży i płaski. Często zauważymy, że organizm będzie traktował w sposób podobny duże i płaskie makrocząsteczki, bez względu na ich budowę chemiczną. Co może zrobić duża i płaska powierzchnia? Przykleić się siłami van der Waalsa do drugiej dużej i płaskiej powierzchni, Jakie to mogą być substancje? Wielopierścieniowe barwniki, harmonijka beta w białkach, w tym tworząca struktury amyloidowe, zasady nukleinowe, błony komórkowe. Jest też bardzo chudziutki, dlatego może wnikać pomiędzy cząsteczki biologiczne związane słabym wiązaniem van der Waalsa, na przykład pomiędzy lipidy błony komórkowej, pomiędzy zasady nukleinowe DNA jak też pomiędzy dwie podjednostki białka. Nie należy jednak oczekiwać mechanicznego zerwania wiązania kowalencyjnego. Spora część sześciokątów plastra miodu posiada dalej strukturę aromatyczną, co oznacza właściwość oddziaływania z receptorem węgla aromatycznego (AHR) ³⁵, mającym duży wpływ na nowotworzenie. Brakuje jednak na razie doświadczeń, które by to potwierdziły. Aromatyczność powoduje też akumulację cząstek pola torsyjnego, a więc silne oddziaływanie na receptory pola torsyjnego, takie jak aktywne priony. ^{8, 34} Oddziaływanie grafenu na organizm może więc następować jednocześnie na wielu drogach.

Szkodliwość grafenu

Wiele badań wykazało szkodliwość grafenu *in vivo* i *in vitro* na poziomie organów: na płuca, wątrobę, śledzionę i inne, na poziomie komórkowym: toksyczność, cytotoksyczność, immunotoksyczność neurotoksyczność oraz toksyczność reprodukcyjną i rozwojową. Na poziomie molekularnym mamy do czynienia z fizyczną destrukcją, stresem oksydacyjnym, odpowiedzią zapalną, apoptozą.³ Kolejno zostaną opisane te aspekty, które chociaż częściowo zostały zbadane:

- koagulacja krwi;
- oddziaływanie na płuca;
- hemoliza krwinek czerwonych;
- perforacja komórek;

- szok oksydacyjny, spowodowany wiązaniem się z prionami prowadzącym do wytwarzania wolnych rodników i aktywacji szlaków kinazowych np MAPK i PI3K/AKT/mTOR;
- działanie na receptory narzędziowe powodujące wytwarzanie cytokin; TNF- α , TGF β 1, IL-6;
- uszkodzenia DNA;
- nowotwory;
- oddziaływanie na system reprodukcyjny;
- oddziaływanie na układ immunologiczny.

Koagulacja krwi

Grafen wprowadzony do krwi wiąże wiele białek osocza, w tym białka odpowiedzialne za koagulację krwi, tworząc tzw. koronę biocząsteczkową. Są to: łańcuch α fibrynogenu, łańcuch β fibrynogenu, protrombina, czy kininogen-1. Fibrynogen to główne białko tworzące skrzep, ulega denaturacji po związaniu z grafenem. Taki kompleks otaczający grafen zawiera też przeciwciała i białka dopełniacza. Cała ta grupa białek może prowadzić do uruchomienia kaskady koagulacji i tworzenia zakrzepów.⁵

Przy bardzo małych stężeniach 2 μ g/ml (2ppm) tlenek grafenu w warunkach *in vitro* powoduje agregację płytek krwi poprzez wewnątrzkomórkowe uwalnianie wapnia z zasobów w cytozolu, aktywację kinaz z rodziny Src i wzmocnienie interakcji integryna-fibrynogen. Przy podaniu *in vivo* przez iniekcję dawki 250 μ g/kg masy ciała, 48% naczyń płucnych było częściowo zamkniętych po 15 minutach.⁵

Okres półtrwania tlenu grafenu we krwi jest znacznie dłuższy niż w przypadku innych nanomateriałów węglowych, dla których wynosi około 5h. W ciągu 48h po iniekcji donaczyniowej tlenek grafenu jest usuwany ze strumienia krwi i trafia do różnych organów z preferencyjną akumulacją w płucach, wątrobie i śledzionie.⁵

Oddziaływanie na płuca

Przy zastosowanej dawce 1mg/kg nie było patologicznych zmian po czternastu dniach traktowania, natomiast przy dawce 10mg/kg były obserwowane w obszarze płuc: ziarniniakowe uszkodzenia, obrzęk płuc, infiltracja komórek zapalnych i zwłóknienie. Wiele badań potwierdza, że głównym miejscem akumulacji i toksyczności tlenu grafenu są płuca. Małe cząsteczki grafenu są szybko, w ciągu 12 godzin usuwane przez nerki, podczas gdy duże są przechwytywane przez płuca. Pojedyncza duża dawka tlenu grafenu prowadzi do uszkodzenia płuc i powoduje infiltrację komórek zapalnych. W płucach grafen zostaje zakumulowany w makrofagach. Nowe badania pokazują, że istnieje degradacja dużych (10 μ m) i małych (100nm) płatków tlenu grafenu przez mieloperoksydazę neutrofilów (MPO).⁵

Hemoliza krwinek czerwonych

Zmiany morfologiczne i agregacja krwinek czerwonych następują przy stężeniu grafenu 100µg/ml, efekt hemolityczny przy 10µg/ml, ale może on wystąpić przy jeszcze mniejszych stężeniach ⁵

Autorzy jednej z prac ² pokazują porównanie oddziaływania kilku rodzajów grafenu na krwinki czerwone. Przytoczone w tej pracy dane pokazują przy jakim stężeniu grafenu *in vitro* występuje hemoliza 50% krwinek - już 20 µg/ml we krwi może mieć dla człowieka katastrofalne skutki:

- tlenek grafenu uzyskany metodą Hummersa (GO) - 142 µg/ml
- tlenek grafenu po 5h sonifikacji roztworu (bGO) - 47 µg/ml
- tlenek grafenu po 5min sonifikacji próbki (pGO-5) - 30,5 µg/ml
- tlenek grafenu po 30min sonifikacji próbki (pGO-30) - 20,2 µg/ml
- grafen uzyskany po dodatkowych 20h obróbki hydrotermalnej (GS) >200 µg/ml

Zbadane przez powyższych autorów oddziaływanie tlenku grafenu pGO-5 na ludzkie fibroblasty skóry metodą MTT wykazało 50% ich przeżywalność przy stężeniu tlenku grafenu 20 µg/ml. Ale to był błąd metody, najpopularniejszej metody pomiaru przeżywalności komórek. Otóż grafen wiąże się do barwnika MTT i fałszuje wyniki. Zbadana inną metodą przeżywalność wyniosła dla fibroblastów 80% przy stężeniu 200 µg/ml. Doświadczenie to pokazuje jak szerokie i nieprzewidywalne może być oddziaływanie grafenu w organizmie, skoro niewielka jego ilość jest w stanie zablokować działanie jakiejś cząsteczki oddziałującej w układzie biologicznym.

Perforacja komórek

Tlenek grafenu może bezpośrednio wyrwać cząsteczki fosfolipidów z podwójnej błony lipidowej. Może też podobnie jak grafen rozdzielić dimer białkowy. Tlenek grafenu wytwarza perforację błon komórkowych, co jest widoczne z użyciem mikroskopu optycznego, fluorescencyjnego i elektronowego. Perforacja widoczna jest w hodowli komórkowej przy stężeniu tlenku grafenu 10µg/ml, po jednej godzinie. Taka perforacja prowadzi ostatecznie do śmierci komórki.¹³

Tlenek grafenu ma tendencję przyklejania się na płasko na zewnątrz komórki i wywoływania zależnej od błony cytotoxyczności. Mniejsze cząsteczki grafenu wchodzą do komórki, przynajmniej częściowo w sposób pasywny, jako że znajdują się w cytoplazmie a nie tylko w kompartmentach gromadzących niepotrzebne i szkodliwe cząsteczki, gdzie internalizacja jest dokonywana w sposób aktywny (szczególnie w badanych w pracy makrofagach). Taki mocno przyklejony do komórki grafen zaburza komunikację z otoczeniem i może albo aktywować komórkę, albo doprowadzić do jej śmierci.¹⁴

Grafen wywołuje perforację nie tylko komórek zwierzęcych, ale też bakteryjnych. Tam też podobnie jak w komórkach zwierzęcych ważnym czynnikiem bakteriobójczym jest powstawanie wolnych rodników i stresu oksydacyjnego. Bakteriobójcze działanie grafenu występuje zarówno w stosunku do bakterii Gram-ujemnych jak i Gram-dodatnich.

Szok oksydacyjny, priony, szlaki kinazowe

To, jak powstaje szok oksydacyjny z dominującą produkcją rodnika ponadtlenkowego, jest słabo rozumiane we współczesnej literaturze, ponieważ wiedza na temat białek prionopodobnych będących na najwyższych poziomach sterowania jest mocno ograniczona, a nawet hamowana. Możemy zauważyć, że publikowane badania dotyczące białek prionopodobnych, oznaczanych jako NADH-oksydazy, odkrytych przez małżeństwo James Morre i Dorothy Morre, zawsze są firmowane ich nazwiskiem, mimo że nowe prace wykonywane są w różnych laboratoriach. Tak jakby istniała bariera na publikację niezależnych prac na ten temat. A przecież już samo to, co się wyłania z tych publikacji to arcyciekawy temat - zegary biologiczne działające precyzyjnie niezależnie od temperatury, wytwarzające w sposób zaprogramowany rodniki ponadtlenkowe, choćbyśmy nie spodziewali się, że jakieś białko w organizmie będzie wytwarzać taką groźną toksynę. To grupa białek prionowych, wysoko konserwowanych ewolucyjnie, odpornych na wysokie temperatury, kwasy, detergenty, enzymy degradujące białka. Tworzą w organizmie pseudokryształy.³⁶

Grafen wiąże się do powierzchni harmonijki β białek prionopodobnych, tworzących pseudokryształ, czy struktury amyloidowe, podobnie jak to czynią nanorurki węglowe i fulereny, wpływając na konformację harmonijki β i ułatwiając tworzenie pseudokryształu.^{6, 7}

Z moich poprzednich^{35, 39} i obecnych^{37, 34} poszukiwań wyłania się dosyć wyraźny szlak reakcji szokowej i uruchamiania kaskad kinazowych przez grafen. Grafen przykleja się do białka prionowego PrP^c, mającego powinowactwo do płaskich struktur molekularnych, aktywuje białko prionowe, co powoduje silny wzrost intensywności reakcji biologicznej zimnej syntezy jądrowej. Ubocznym efektem jest wytwarzanie reaktywnych form tlenu (np. rodnika ponadtlenkowego). Dla komórek makrofagów półtorakrotny wzrost stężenia rodników ponadtlenkowych następuje już przy obecności w hodowli 5 $\mu\text{g/ml}$ niemodyfikowanego grafenu.²³ Dalej, prawdopodobnie pod wpływem tych właśnie reaktywnych form tlenu, następuje aktywacja białka ASK1, a dalej wszystkich trzech ścieżek MAP-kinazowych poprzez fosforylację białek: ERK, JNK i p38.²³ I podobnie aktywacja szlaku kinazowego PI3K/Akt.²²

Taka systemowa aktywacja szlaków kinazowych, pomijając inne oddziaływania grafenu, jest korzystna w leczeniu ran, oparzeń i złamań kości, jakkolwiek katastrofalna w przypadku istnienia nowotworu, któremu zapewnia ekspansję. Istnieją więc całkiem obiecujące próby wykorzystania grafenu w miejscach złamań dla przyspieszenia leczenia.²²

Potwierdza to praca pokazująca aktywację angiogenezy na hodowlach komórek HUVEC i ECV-4 pod wpływem zarówno grafenu jak i tlenku grafenu o stężeniach 1-50 ng/ml . Pokazano ich proliferację, migrację i tworzenie rurek, oraz aktywację białek Akt i eNOS²⁵

Grafen oddziałuje też z innymi białkami prionopodobnymi z α -synukleina i amyloidem β , aktywując przy określonych stężeniach tworzenie krystalicznych włókien.^{19, 20} Przez szlak białko prionowe PrP^c p38 MAPK i receptor glutaminowy biegnie neurotoksyczność części chorób neurodegeneracyjnych²¹, a więc na przykład klasycznej choroby szalonych krów, czy choroby Creutzfelda-Jakoba. Możemy więc spodziewać się zaostrzenia chorób neurodegeneracyjnych pod wpływem grafenu.

Działanie na receptory narządziowe powodujące wytwarzanie cytokin, np. TNF- α , TGF β 1, IL-6

Dzięki receptorom narzędziowym (tool like receptors, mają kształt wideł, łopaty itp) wykrywana jest obecność różnych intruzów, poprzez rozpoznawanie przynależnych im cząsteczek biologicznych: TLR-2 - składniki ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich - peptydoglikany, TLR-3 - dwuniciowe wirusowe DNA, TLR-4 - lipopolisacharydy z powierzchni bakterii Gram ujemnych, TLR-5 - flagellina bakteryjna, TLR-7 - jednoniciowe wirusowe DNA, TLR-9 - niemetylowane DNA z motywami CpG pochodzące od bakterii i wirusów^{27, 28}. Receptory te, ale też kilka innych białek, znajdujące się na komórkach „wartownikach” takich jak komórki dendrytyczne, makrofagi, czy komórki tuczne, uruchamiają wydzielanie cytokin prozapalnych.²⁹ Najważniejsze z nich to: TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6.

Tlenek grafenu przy stężeniu 5 μ g/ml zwiększa transkrypcję genu TLR-9, przy stężeniu 100 μ g/ml również genu TLR-4. Powoduje to wydzielanie cytokin; TNF- α , IFN- β , IFN- γ , jak też IL-2, IL10. Inne receptory narzędziowe nie są specjalnie wrażliwe na grafen. Pod wpływem cytokin często następuje śmierć komórek, w tym makrofagów, które „połknęły” grafen w celu jego eliminacji.²⁷

W jaki sposób te dwa receptory, przystosowane do rozpoznawania mikroorganizmów, są pobudzane przez grafen nie wiemy. Są doświadczenia, które przynajmniej częściowo za aktywację TLR-4 oskarżają LPS-y z bakterii, które w procesie produkcyjnym mogły związać się silnie z powierzchnią grafenu.³²

O śmierci makrofagów przez nekrozę za pośrednictwem receptora TLR-4 i cytokiny TNF- α przy stężeniu tlenu grafenu zaledwie 1 μ g/ml piszą autorzy innej pracy³⁰. Wskazują też na uszkodzenie przez grafen cytoszkieletu komórki, czego objawem jest zapadnięcie się błony komórkowej.

Uszkodzenia DNA

Grafen jest cytotoksyczny dla niektórych komórek zwierzęcych i ludzkich mniej więcej przy stężeniu 10 μ g/ml w hodowli komórkowej. Wiele rodzajów komórek jest bardziej odpornych na grafen, jednak te najwrażliwsze decydują o szkodach wyrządzonych w organizmie. Komórki mysie są nieco bardziej wrażliwe od ludzkich. Jedną z najczęściej badanych przyczyn cytotoksyczności jest szok tlenowy wywołany przez grafen, powstają rodniki ponadtlenkowe, nadtlenek wodoru i rodnik wodorotlenowy.

Małe cząstki grafenu są w stanie przenikać przez błonę komórkową, docierać do jądra komórkowego i oddziaływać bezpośrednio z DNA, prowadząc już przy stężeniu 0,1 μ g/ml do fragmentacji DNA i aberracji chromosomalnych.³

Mechanizmów cytotoksyczności grafenu względem komórek (a więc ich uśmiercania) jest kilka. Zależy to między innymi od rodzaju komórek i rodzaju grafenu. Jeden z nich wynika z powstawania uszkodzeń DNA. W przypadku szczurzych komórek nabłonka naczyń nerek, obecność fragmentacji DNA obserwowana była przy stężeniu grafenu powyżej 50 μ g/ml.¹ Mechanizm takiej cytotoksyczności wynika często z powstania stresu oksydacyjnego, prowadzącego do uszkodzania DNA przez wolne rodniki, pochodne tlenu. Jest to mechanizm, w którym wspomniane rodniki, na przykład rodnik ponadtlenkowy, czy hydroksylowy, zrywają wiązania w DNA. Obecność zerwań nici DNA wykazuje się w tak zwanym teście kometkowym lub w teście TUNEL. Czasem jednak trudno odróżnić ten mechanizm od apoptozy, a więc tzw programowanej śmierci komórki, która jest dramatyczną obroną

organizmu przed obcymi intruzami, którzy mogliby wprowadzić do komórek organizmu obce DNA lub spowodować mutacje. A taki mechanizm występuje, kiedy grafen przykleja się trwale na płasko do komórki, a komórka odczuwa, że nie jest w stanie uwolnić się od tego intruza. We wspomnianym badaniu komórek nerek, dominował efekt apoptozy.¹ Popularna hipoteza o przecinaniu wiązań DNA przez płaski grafen działający jak żyłeczka nie została udowodniona. Przede wszystkim, trzeba zdać sobie sprawę że siła wiązań kowalencyjnych w grafenie nie różni się dużo od siły wiązań kowalencyjnych w cząsteczkach biologicznych. Niemniej jednak takiego mechanizmu nie możemy wykluczyć. Przecięcie błony komórkowej, której spoistość opiera się głównie na oddziaływaniach van der Waalsa, jest pod tym względem znacznie bardziej prawdopodobne, ale będzie to raczej wślizgnięcie się do komórki bez zerwania wiązań kowalencyjnych lipidów. Trzeba też mieć na uwadze, skąd ma pochodzić siła działająca na taką żyłeczkę?

Nowotwory

Znany jest fakt tworzenia nowotworów pod wpływem obcych, płaskich, nierozpuszczalnych powierzchni. Bezpośredni fizyczny kontakt komórki z gładką, ciągłą, biotrwłą powierzchnią implantu uważa się za element podstawowy takiego nowotworzenia. Niemożliwe aby to uwalniane dodatki, chemikalia, czy jony metali miały udział w nowotworzeniu, ponieważ niereaktywne materiały, takie jak ceramika oparta na tlenku glinu i stabilne polimery jak politetrafluoroetylen wytwarzają powodowaną obcym ciałem sarkomę. Przetestowano dziewięć medycznych biomateriałów (materiał ceramiczny, trzy metale, pięć polimerów) w postaci gładkich krążków, implantując je podskórnym u szczurów, wszystkie one zaindukowały sarkomę. Trwały stan zapalny z towarzyszącą produkcją wolnych rodników prowadzi ostatecznie do rozwoju nowotworu.¹⁷

Biorąc pod uwagę, że część białek prionopodobnych znajduje się na powierzchni komórek, a nawet na ich wypustkach, zrozumiałe jest że gładkie powierzchnie tworzą wiązania z tymi białkami. Pewnie są jeszcze dodatkowe właściwości tych powierzchni, aby białka te zostały zaktywowane do wytwarzania wolnych rodników i uruchomienia szlaków kinazowych, jednak jak wynika z próby dziewięciu materiałów, są to właściwości powszechnie występujące. W ten mechanizm doskonale wpisuje się nie pokryty niczym grafen.

Nowotworowe komórki A549 pochodzące z nabłonka pęcherzyków płucnych były traktowane tlenkiem grafenu o stężeniach 5, 10, 20 $\mu\text{g/ml}$ przez 48h, a następnie ustalano ekspresję białek z użyciem metod proteomiki. Wśród białek wykazujących największą nadekspresję w obecności grafenu, były grupy zarządzające ekspresją genów i szlakami kinazowymi, w tym: regulacją splicingu RNA (a więc łączeniem egzonów w zaplanowany sposób), regulacją aktywacji plazminogenu, organizacją matrix międzykomórkowej, regulacją migracji komórek, koagulacją, białkami dopełniacza, szlakiem sygnalizacji p53 i transkrypcją prowadzącą do nowotworów.¹⁶ Nie jest to dziwne, kiedy zauważymy, że płaski grafen wiąże się silnie do płaskiej harmonijki β białek prionopodobnych będących czujnikami cząstek pola torsyjnego, a regulacja poprzez cząstki pola torsyjnego należy do najwyższych poziomów regulacyjnych w komórce. Z obecności powyższych białek w doświadczeniu *in vitro* możemy się spodziewać tworzenia zatorów, stymulacji nowotworzenia, zaburzenia systemu immunologicznego.

Z innych doświadczeń badania ekspresji 30 000 genów komórek raka piersi MDA-MB-231 wynika, że pod wpływem grafenu aktywowane były geny odpowiedzialne za kontrolę uszkodzeń DNA, apoptozę, cykl komórkowy i metabolizm.¹⁸ A więc i tu mamy odpowiedź systemową na najwyższych piętach regulacji.

Komórki nowotworowe HeLa pochodzące z szyjki macicy są szczególnie podatne na grafen. Przy stężeniu tlenu grafenu 80µg/ml po 24h występował siedemnastokrotny wzrost ilości wolnych rodników tlenowych, następowało to prawdopodobnie bez wychwytu tlenu grafenu przez komórkę.¹⁸

Oddziaływanie na system reprodukcyjny

Badania na robakach *Caenorhabditis elegans* (będących dobrze poznanym standardem laboratoryjnym) wykazały, że tlenek grafenu już przy stężeniu 5µg/ml mocno ogranicza ich rozrodczość a przy 50µg/ml całkowicie hamuje. Zredukowana forma grafenu wywoływała podobny efekt przy kilkakrotnie większym stężeniu. Badanie spektum aktywowanych genów pokazało, że największe zmiany wystąpiły w zakresie genów związanych z rozwojem organizmu, embrionu i jajeczek.²⁶ Nie jest to dziwne, skoro już wiemy, że grafen aktywuje priony, których jedną z najważniejszych funkcji jest udział morfogenezie organizmu. Autorzy ci²⁶ wykazali że problemy reprodukcyjne tego robaka wiązały się z oddziaływaniem tlenu grafenu na ścieżki sygnałowe Wnt i MAPK.

Oddziaływanie na układ immunologiczny

System dopełniacza we krwi składa się z ponad trzydziestu białek. Jest pierwszą linią obrony organizmu, organizującą odpowiedź immunologiczną przeciwko obcym intruzom, w tym polimerom i syntetycznym nanocząsteczkom. Tlenek grafenu aktywuje całą tę kaskadę dopełniacza.²⁴

Grafen jest adjuwantem silniejszym od związków glinu, dlatego zaczęto go stosować w szczepionkach, również w postaci pokrytej glikolem polietylenowym lub polietyloiminą³³

Ale jednocześnie warto zauważyć, że pokrycie grafenu polimerami np glikolem polietylenowym [znajdującym się w szczepionkach] jest metodą uniknięcia rozpoznania go przez komórki immunologiczne.⁵

Szczepionki

Do czego w szczepionkach służy grafen? Wiemy że wiąże się do powierzchni białek prionopodobnych, ułatwiając tworzenie struktur amyloidowych,^{6,7} Możemy się spodziewać, że to właśnie grafen, na równi z wytwarzanym z RNA białkiem kolca jest odpowiedzialny za silne podbicie aktywności enzymów prionopodobnych, a w wyniku stymulowanie biologicznej reakcji jądrowej odpowiedzialnej za zjawisko przyciągania metali do ciała.^{37,34}

W szczepionce oprócz grafenu znajduje się miedź, czy raczej jony miedzi. Autorzy pracy⁴ wykazali doświadczalnie, że miedź razem z tlenkiem grafenu stanowi bardzo dobre narzędzie do przecinania DNA, choć nie tak bardzo wydajne jak by oczekiwali dla

perspektywicznego uszkodzania komórek nowotworowych. Grafen interkaluje między zasady DNA, jon miedzi przyciągany jest do grup fosforanowych DNA i tam w reakcji redoks następuje przecięcie nici DNA. Spośród grupy badanych jonów metali wiążących się z grupami modyfikującymi grafen przez chelatowanie, jeszcze żelazo wykazywało wysoką aktywność. A więc drugim przewidywalnym oddziaływaniem grafenu jest spontaniczne cięcie DNA.

Z powyższych informacji wynika, że obecne w szczepionce COVID19 firmy Pfizer wtręty ciała stałego w postaci tlenku grafenu o wielkości około $2\mu\text{m}$ ³⁴ zostały dodane w sposób zamierzony. O obecności dużej ilości tlenku grafenu w tej szczepionce wiedzieliśmy już wcześniej z badań hiszpańskich⁹. Jakie jest jednak biologiczne oddziaływanie grafenu w aspekcie związanego ze szczepionką białka prionopodobnego? W doświadczeniach modelowych z wykorzystaniem liści kapusty wykazałam, że białko prionowe kapusty jest aktywowane przez grafen. Występowała bardzo silna aktywacja, zarówno przez preparat homeopatyczny D204 grafenu, jak i przez postawiony w odległości 2cm grafen w buteleczce (ok. 10g).³⁴ Z literatury natomiast wiemy, że pod wpływem grafenu wytwarzany jest w organizmie rodnik ponadtlenkowy i nadtlenek wodoru^{10, 11}, co wskazuje na oddziaływanie z białkami prionopodobnymi, dla których rodnik ponadtlenkowy jest podstawowym produktem biochemicznym³⁶, a dalej powstaje nadtlenek wodoru poprzez działanie katalazy, ratującej organizm przed uszkodzeniami od rodnika ponadtlenkowego. Grafen aktywuje szlak kinazowy PI3K/AKT¹², z czego możemy domyślać się, że następuje to nie przez jakieś przypadkowe białko prionopodobne, ale przez białko prionowe PrP^c, będące głównym receptorem dla tego szlaku kinazowego, a jednocześnie przy zmienionej konformacji, białkiem odpowiedzialnym za prionową chorobę Creutzfeldta Jakoba.

Płyny infuzyjne i zastrzyki

Szczepionki to tylko wierzchołek góry lodowej. Niektórzy lekarze wiedzą o tym, że grafen znajduje się w zastrzykach, na przykład w insulinie. Informacje rozchodzą się jedynie w gronie lekarzy. Można się domyślać, że osoby, które to zbadały, obawiają się upubliczniać swoje wyniki, aby nie stracić pracy. Zbadałam na obecność grafenu sześć płynów infuzyjnych różnych firm. Było to badanie przeprowadzone na prośbę Polskiego Stowarzyszenia Niezależnych Lekarzy i Naukowców. W pięciu z sześciu dostarczonych mi płynów znajdował się grafen. Dołączyłam do badań insulinę i heparynę stosowaną po zabiegach chirurgicznych - Neoparin. Zarówno w insulinie jak i heparynie znajdował się grafen, przy czym w heparynie w kilkakrotnie większym stężeniu.³⁸ Przy podawaniu tej heparyny bliskiej osobie (M. K.) po wymianie stawu biodrowego, pojawiał się długotrwały ból i gorąco w obszarze wstrzyknięć w brzuch, świadczące o wywoływaniu stanu zapalnego. Podobne objawy miały inne osoby zoperowane na tym samym oddziale szpitala.

Zastanawiająca jest ufność wielu ludzi do systemu biznesowego związanego z leczeniem i do instytucji rządowych. Kiedy dowiadują się o grafenie w lekach do iniekcji, często słyszę pytanie: A może grafen dostał się tam przypadkowo? Tymczasem w tak zaistniałej sytuacji decydując się na pobyt w szpitalu, musimy rozważyć dodatkowe wysokie ryzyko od toksyn dodawanych do zastrzyków. Każda spostrzegawcza osoba zauważy, że obecnie bardzo dużo hospitalizacji osób starszych kończy się śmiercią, nieporównanie więcej, niż znamy to ze swojego doświadczenia sprzed kilku lat.

Podsumowanie

Grafen, a w szczególności jego zmodyfikowana przez utlenianie postać - wysoko toksyczny i trudnowykrywalny tlenek grafenu, wpisuje się doskonale w zamierzenia łagodnej depopulacji. Zamiast obozów zagłady, uzyskujemy trudności reprodukcyjne i drastyczne zaostrzenie chorób cywilizacyjnych, atakujących głównie w okresie okołomerytalnym. W ten sposób nie potrzebujemy nakłaniać do dobrowolnej eutanazji osób w wieku poprodukcyjnym, tym bardziej zmuszać do czegoś, jak umyślili to już dawno inżynierowie społeczni. Eutanazja następuje w sposób automatyczny.

Autorzy jednej z prac z 2016r. ³¹ piszą o przyszłym wykorzystaniu tlenku grafenu w formie częstych wstrzyknięć dożylnych. To wszystko mimo zauważanego przez nich szkodliwego wpływu na erytrocyty i komórki immunologiczne. Widzimy, że gremia naukowe nie mają oporów w opracowywaniu coraz to nowych sposobów twardej ingerencji w nasze organizmy.

Na razie nie ma dużo prac, pokazujących szkodliwość grafenu, część z nich wynika z badań oddziaływania grafenu na organizm, aby wykorzystać go do leczenia, ale nie przez stymulację naturalnych mechanizmów naprawczych i usuwanie przyczyn choroby, ale przez bardzo mechaniczne podejście z wprowadzeniem do organizmu zupełnie obcych biologicznie substancji, jak nanomateriały sprzężone z czymś oddziałującym na chore komórki, a dalej w perspektywie przez nanoroboty. To modne podejście, ale wydaje się być zupełnie ślepą uliczką. Nie rozumiemy całościowo jak działa nasz organizm, nie rozumiemy prawie wcale jak działa mózg, nie kontrolujemy oddziaływań polowych dochodzących z zewnątrz, powodowanych przez toksyczne cząstki pola torsyjnego, natomiast będziemy naprawiać 100 milionów komórek nowotworowych nanorobotami, które będą poprawiać sekwencje setek uszkodzonych genów w każdej komórce. A wszystko z szacunku dla autorytetów. Nie wychodzimy poza model standardowy, poza podręcznikową fizykę, nie tworzymy bytów ponad to, co wydaje się konieczne, według przestarzałej zasady brzytwy Okhama, ale możemy omamiać ludzi wizjami, że posiadamy wysoko zaawansowaną wiedzę.

Wykrywanie grafenu w preparatach medycznych jest trudne. Nie kupimy paseczków zieniających kolor pod wpływem grafenu zawartego w leku. Jediną komercyjnie dostępną metodą identyfikacji grafenu jest mikrospektroskopia Ramana. To oznacza, że fragment grafenu oświetlamy promieniem lasera, wpadającym przez obiektyw, a badana spektroskopowo jest niewielka ilość rozproszonego promieniowania o częstotliwości różniącej się od tej dostarczanej przez laser. Wykrywane są drgania cząsteczki chemicznej, co oznacza, że dowiadujemy się jakie są w niej ugrupowania chemiczne.

Literatura

1. T. Fahmia, L. D. Brancha, Z. A. Nimab, D. S. Janga, A. V. Savenkaa, A. S. Birisb, A. G. Basnakiana; Mechanism of graphene-induced cytotoxicity: Role of endonucleases; Journal of Applied Toxicology (2017) Accepted 5 February 2017; DOI 10.1002/jat.3462

2. K. H. Liao, Y. S. Lin, C. W. Macosko, C. L. Haynes; Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin fibroblasts; *ACS Applied Materials Interfaces* (2011) 3: 2607-2615. [dx.doi.org/10.1021/am200428v](https://doi.org/10.1021/am200428v)
3. K. Wu, Q. Zhou, S. Ouyang; Direct and indirect genotoxicity of graphene family nanomaterials on DNA - A review; *Nanomaterials* (2021) 11, 2889. <https://doi.org/10.3390/nano11112889>
4. H. Ren, C. Wang, J. Zhang, X. Zhou, D. Xu, J. Zheng, S. Guo, J. Zhang; DNA cleavage system of nanosized graphene oxide sheets and copper ions; *ACS Nano* (2010) 4(12): 7169-7174.
5. V. Palmieri, G. Perini, M. De Spirito, M. Papi; Graphene oxide touches blood: in vivo interactions of bio-coronated 2D materials; *Nanoscale Horizons*; 17 October 2018; DOI: 10.1039/c8nh00318a
6. Y. Zhua, J. Guoa, A. Zhanga, L. Lib, X. Liua, H. Liua, X. Yaob; How graphene affects the misfolding of human prion protein: A combined experimental and molecular dynamics simulation study; *Environmental Research* (2019) 171: 1-10; <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.057>
7. S. Zhou, Y. Zhu, X. Yao, H. Liu; Carbon nanoparticles inhibit the aggregation of prion protein as revealed by experiments and atomistic simulations; *Journal of Chemical Information and Modeling* (2019) 59: 1909-1918; DOI: 10.1021/acs.jcim.8b00725
8. D. Wojtkowiak, B. Głębigicka, W. Misztal, M. Skórkowska, A. Frydrychowski; Infekujące leki homeopatyczne oparte o struktury aromatyczne, Gdańsk 21.06.2020; www.torsionfield.eu
9. Pablo Campra Madrid; Detection of graphene in covid19 vaccines by micro-raman spectroscopy: technical report; Almeria, Spain, November 2, 2021; <https://www.laquintacolumna.net/>
10. J. Frontinan–Rubio, M. V. Gomez, V. J. Gonzalez, M. Duran–Prado, E. Vazquez; Sublethal exposure of small few–layer graphene promotes metabolic alterations in human skin cells; *Scientific Reports* (2020) 10:18407; <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75448-0>
11. Y. Li, Y. Liu, Y. Fu, T. Wei , L. L. Guyader, G. Gao, R. S. Liu, Y. Z. Chang, C. Chen; The triggering of apoptosis in macrophages by pristine graphene through the MAPK and TGF-beta signaling pathways; *Biomaterials* (2012) 33: 402e411; doi:10.1016/j.biomaterials.2011.09.091
12. X. Wua, S. Zhenga, Y. Yea, Y. Wua, K. Linb, J. Sua; Graphene enhancing osteogenic differentiation and bone regeneration of poly(lactic-co-glycolic acid) via activation of PI3K/Akt/GSK-3β/β-catenin signal circuit; *J. Name* (2013) 00: 1-3; DOI:10.1039/C8BM00127H
13. G. Duan1, Y. Zhang, B. Luan, J. K. Weber, R. W. Zhou, Z. Yang, L. Zhao, J. Xu, J. Luo, R. Zhou; Graphene-induced pore formation on cell membranes; *Scientific Reports* (2017) 7:42767; DOI: 10.1038/srep42767
14. J. Russier, E. Treossi, A. Scarsi, F. Perrozzi, H. Dumortier, L. Ottaviano, M. Meneghetti, V. Palermob, A. Bianco; Evidencing the mask effect of graphene oxide: a comparative study on primary human and murine phagocytic cells; *Nanoscale* (2013) 5: 11234–11247; DOI: 10.1039/c3nr03543c
15. V. T. Pham, V. K. Truong, M. D. Quinn, S. M. Notley, Y. Guo, V. A. Baulin, M. A. Kobaisi, R. J. Crawford, E. P. Ivanova; Graphene induces formation of pores killing spherical and rod-shaped bacteria; *ACS Nano*; (2015?)

<http://pubs.acs.org/journal/ancac3>.

16. Y. Liao, W. Wang, Z. Li, Y. Wang, L. Zhang; X. Huang, P. Cai; Comparative proteomic analysis reveals cytotoxicity induced by graphene oxide exposure in A549 cells; *Journal of Applied Toxicology* (2020) 1–12; DOI: 10.1002/jat.4096
17. V. C. Sanchez, A. Jachak, R. H. Hurt, A. B. Kane; Biological interactions of graphene-family nanomaterials - an interdisciplinary review; *Chem. Res. Toxicol.* (2012) 25(1): 15–34; doi:10.1021/tx200339h.
18. A. Jarosz, M. Skoda, I. Dudek, D. Szukiewicz; Oxidative stress and mitochondrial activation as the main mechanisms underlying graphene toxicity against human cancer cells; *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; Volume 2016, Article ID 5851035, 14 pages; <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5851035>
19. M. Ghaeidamini, D. Bernson, N. Sasanian, R. Kumar, E. K. Esbjorner; Graphene oxide sheets and quantum dots inhibit α -synuclein amyloid formation by different mechanisms; *Nanoscale* (2020); DOI: 10.1039/d0nr05003b
20. Z. Yang, C. Ge, J. Liu, Y. Chong, Z. Gu, C. A. Jimenez-Cruz, Z. Chaia, R. Zhou; Destruction of amyloid fibrils by graphene through penetration and extraction of peptides; *Nanoscale*, (2015) 7: 18725–18737; DOI: 10.1039/c5nr01172h
21. Fang, B. Wu, N. T. T. Le, T. Imberdis, R. C. C. Mercer, D. A. Harris; Prions activate a p38 MAPK synaptotoxic signaling pathway; *PLoS Pathog* 14(9): e1007283. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007283>
22. Z. Du, C. Wang, R. Zhang, X. Wang, X. Li; Applications of graphene and its derivatives in bone repair: advantages for promoting bone formation and providing real-time detection, challenges and future prospects; *International Journal of Nanomedicine* (2020) 15: 7523-7551; <http://doi.org/10.2147/IJN.S271917>
23. Y. Li, Y. Liu, Y. Fu, T. Wei, L. Le Guyader, G. Gao, R. S. Liu, Y. Z. Chang, C. Chen; The triggering of apoptosis in macrophages by pristine graphene through the MAPK and TGF-beta signaling pathways; *Biomaterials* (2012) 33: 402e411; doi:10.1016/j.biomaterials.2011.09.091
24. P. P. Wibroe, S. V. Petersen, N. Bovet, B. W. Laursen, S. Moein Moghimi; Soluble and immobilized graphene oxide activates complement system differently dependent on surface oxidation state; *Biomaterials* (2016) 78: 20-26; <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.11.028>
25. S. Mukherjee, P. Sriram, A. K. Barui, S. K. Nethi, V. Veeriah, S. Chatterjee, K. I. Suresh, C. R. Patra; Graphene oxides show angiogenic properties; *Advanced Healthcare Materials* (2015) 4: 1722–1732; DOI: 10.1002/adhm.201500155
26. N. Chatterjee, Y. H. Kim, J. Yang, C. P. Roca, S. W. Joo J. Choi; A systems toxicology approach reveals the Wnt-MAPK crosstalk pathway mediated reproductive failure in *Caenorhabditis elegans* exposed to graphene oxide (GO) but not to reduced graphene oxide (rGO), *Nanotoxicology* (2016), DOI: 10.1080/17435390.2016.1267273
27. G. Y. Chen, H. J. Yang, C. H. Lu, Y. C. Chao, S. M. Hwang, C. L. Chen, K. W. Lo, L. Y. Sung, W. Y. Luo, H. Y. Tuan, Y. C. Hu; Simultaneous induction of autophagy and toll-like receptor signaling pathways by graphene oxide; *Biomaterials* (2012) 33: 6559-6569; doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.05.064
28. N. McGarry, C. L. Murray, S. Garvey, A. Wilkinson, L. Tortorelli, L. Ryan, L. Hayden, D. Healy, E. W. Griffin, E. Hennessy, M. Arumugam, D. T. Skelly, K. J. Mitchell, C. Cunningham; Double stranded RNA drives anti-viral innate immune responses, sickness

- behavior and cognitive dysfunction dependent on dsRNA length, IFNAR1 expression and age; *Brain Behavior and Immunity* (2021) 95: 413–428
29. I. Tizard; Sickness behavior, its mechanisms and significance; *Animal Health Research Reviews* (2008) 9(1): 87-99; doi:10.1017/S1466252308001448
30. G. Qu, S. Liu, S. Zhang, L. Wang, X. Wang, B. Sun, N. Yin, X. Gao, T. Xia, J. J. Chen, G. B. Jiang; Graphene oxide induces toll-like receptor 4 (TLR4)-dependent necrosis in macrophages; *ACSnano* (2013); published online 10.1021/nn402330b
31. M. H. Lim, I. C. Jeung, J. Jeong, S. J. Yoon, S. H. Lee, J. Park, Y. S. Kang, H. Lee, Y. J. Park, H. G. Lee, S. J. Lee, B. S. Han, N. W. Song, S. C. Lee, J. S. Kim, K. H. Bae, J. K. Min; Graphene oxide induces apoptotic cell death in endothelial cells by activating autophagy via calcium-dependent phosphorylation of c-Jun N-terminal kinases; *Acta Biomaterialia* (2016); <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2016.09.018>
32. M. H. Lahlania, K. Gokulana, K. Williamsa, M. V. Khodakovskaya; S. Kharea; Graphene and carbon nanotubes activate different cell surface receptors on macrophages before and after deactivation of endotoxins; *Journal of Applied Toxicology* (2017); DOI 10.1002/jat.3477
33. L. Xu, J. Xiang, Y. Liu, J. Xu, Y. Luo, L. Feng, Z. Liu, R. Peng; Functionalized graphene oxide serves as a novel vaccine nano-adjuvant for robust stimulation of cellular immunity; *Nanoscale* (2016), DOI: 10.1039/C5NR09208F.
34. D. Wojtkowiak; Jak przegrzać priony? Aktywacja i inhibicja białek prionowych; Gdańsk, 19 marca 2022; NEXUS maj-czerwiec 2022, NEXUS lipiec-sierpień 2022, www.torsionfield.eu
35. D. Wojtkowiak; Współczesne spojrzenie na mechanizmy powstawania nowotworów ze szczególnym uwzględnieniem substancji aromatycznych aktywujących receptor AhR oraz wpływu zakłócającego urządzeń elektrycznych; Gdańsk, 1.09.2019, www.torsionfield.eu
36. D. J. Morre, D. M. Morre; Cell Surface NADH oxidases (ECTO-NOX proteins) with roles in cancer, cellular time-keeping, growth, aging and neurodegenerative diseases; *Free Radical Research* (2003) 37(8): 795-808.
37. D. Wojtkowiak; WIMPy i biologiczna reakcja jądrowa w organizmie człowieka; Gdańsk, 18 sierpnia 2021; www.torsionfield.eu, NEXUS listopad-gudzień 2021, NEXUS styczeń-luty 2022, wersja angielska: WIMPs and biological nuclear reaction in the human body; <https://piotrbein.net/2021/08/19/whence-magnetism-at-vax-sites-wimps-and-cold-synthesis-in-the-human-body/>; www.torsionfield.eu,
38. D. Wojtkowiak; Wyniki badania obecności grafenu w płynach infuzyjnych; 22 lutego 2022; www.torsionfield.eu
39. D. Wojtkowiak; Związek pandemii koronowirusa SARS CoV-2 z siecią 5G; Gdańsk 7.05.2020; www.torsionfield.eu