



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
Facultad de Estomatología
Maestría en estomatología con opción terminal rehabilitación oral

TESINA
**BIOCOMPÓSITOS A BASE DE GRAFENO Y SUS DERIVADOS PARA LA
REGENERACIÓN ÓSEA**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA
CON OPCIÓN TERMINAL EN REHABILITACION ORAL

PRESENTA:

L.E. RAÚL BASTIDA HERNÁNDEZ
MATRÍCULA: 219450016

DIRECTOR DE TESIS:
D.C. JULIA FLORES TOCHÍHUITL
ID:100228022

DIRECTOR DISCIPLINARIO:
M.E.I GUILLERMO FRANCO ROMERO
ID: 100294988

DIRECTOR METODOLÓGICO:
D.C. CAROLINA SÁMANO VALENCIA
ID:100526470

LECTOR:
D.C IRENE AURORA ESPINOZA DE SANTILLANA
ID:100238722

MAYO 2021



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
Facultad de Estomatología
Maestría en estomatología con opción terminal rehabilitación oral

TESINA
**BIOCOMPÓSITOS A BASE DE GRAFENO Y SUS DERIVADOS PARA LA
REGENERACIÓN ÓSEA**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAestrÍA EN ESTOMATOLOGÍA
CON OPCIÓN TERMINAL EN REHABILITACION ORAL

PRESENTA:

L.E. RAÚL BASTIDA HERNÁNDEZ
MATRÍCULA: 219450016

DIRECTOR DE TESIS:
D.C. JULIA FLORES TOCHÍHUITL
ID:100228022

DIRECTOR DISCIPLINARIO:
M.E.I GUILLERMO FRANCO ROMERO
ID: 100294988

DIRECTOR METODOLÓGICO:
D.C. CAROLINA SÁMANO VALENCIA
ID:100526470

LECTOR:
D.C IRENE AURORA ESPINOZA DE SANTILLANA
ID:100238722

MAYO 2021

DICTAMEN



BUAP

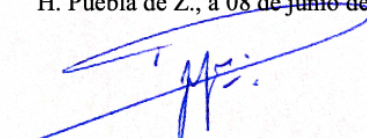
Oficio No. FESIEP/083/2021

C. Raúl Bastida Hernández
Matrícula: 219450016
Alumno de la Maestría en Estomatología
Con opción Terminal en Rehabilitación Oral
De la Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
P R E S E N T E.

*El que suscribe, **MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez**, Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por este medio me permito informar a usted que esta Secretaría aprueba la impresión de la Tesina titulada “**Biocompuestos a base de grafeno y sus derivados para la regeneración ósea**”, misma que presentará para realizar su examen profesional y obtener el grado de **Maestro en Estomatología con Opción Terminal en Rehabilitación Oral**.*

Sin más por el momento, deseándole lo mejor, le reitero mi distinguida consideración.

A t e n t a m e n t e
“Pensar bien, para vivir mejor”
H. Puebla de Z., a 08 de junio de 2021.


MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez
Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología



Facultad
de Estomatología

31 Poniente 1304, Col. Volcanes,
Puebla, Pue. C. P. 72410
01 (222) 229 55 00 Ext. 6400

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESINA RECEPCIONAL

Para obtener el Grado de: **Maestro en Estomatología con opción terminal en Rehabilitación Oral**
Registro CIFE: 2021032 Fecha: 08-06-2021

Título de la Tesina: **Biocompuestos a base de grafeno y sus derivados para la regeneración ósea.**

Nombre del alumno: **Raúl Bastida Hernández** Matrícula: **219450016**

Domicilio: CALLE 19 SUR 2713 COLONIA VOLCANES PUEBLA, PUEBLA.

Tel: 7752271589 Fecha de ingreso a la Facultad: enero 2019

Firma: 

Director de tesis: D.C. Julia Flores Tochiuhitl Grado académico: **Doctora en Ciencias Químico-Biológicas.**

Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **10022802** Tel: 2225466711

Firma: 

Director disciplinario: M.E.I Guillermo Franco Romero Grado académico: **Maestro En Estomatología Integral** Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **100294988**

Tel: 2222120657

Firma: 

Director metodológico: DC. Carolina Sámano Valencia Grado académico: **Doctora en Ingeniería y Ciencias de Materiales** Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **100526470**

Tel: 4448191822

Firma: 

Lector: DC. Irene Aurora Espinosa de Santillana Grado académico: **Doctora en Ciencias**

Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **100238722** Tel: 2222050114

Firma: 

Nombre y firma de aprobación del responsable de la Maestría en Estomatología con Opción terminal en Rehabilitación Oral.

MEI. Guillermo Franco Romero

Firma: 

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología, autoriza la impresión de la Tesis.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez



Fecha: 08-06-2021

Sello: _____

Con todo mi amor a mis padres

Por darme la vida, por darme una infancia llena de felicidad, por la formación y educación que con mucho esfuerzo e ímpetu lograron enseñarme, por ser los principales promotores de mis sueños, por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas, por siempre desear y anhelar lo mejor para mi vida.

A mis hermanos

A mis hermanos, por los consejos que me dieron y quienes me demostraron que no podría haber tenido mejores.

A mi tutora de tesis

D.C *Julia Flores Tochiuitl* por su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas que han sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigador, por su orientación y rigurosidad, que han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntos.

A mis tutores

Por su compromiso, apoyo y disposición durante este proceso de mi formación, Director Metodológico, Dra. Carolina Sámano Valencia, Director Disciplinario, M.E.I Guillermo Franco Romero.

A mi universidad

Por darme las herramientas necesarias para forjarme como profesional, me siento muy complacido y orgulloso de pertenecer a esta casa de estudios, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

ÍNDICE:

RESUMEN.....	9
INTRODUCCIÓN.....	11
CAPÍTULO I. MARCO CONTEXTUAL.....	13
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL.....	15
2.1 Ingeniería de tejidos.....	15
2.2 Biocompuestos para regeneración ósea.....	16
2.3 El grafeno y sus derivados.....	17
CAPÍTULO III. MARCO REFERENCIAL.....	19
CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA Y ANÁLISIS.....	32
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN.....	34
BIBLIOGRAFÍA.....	38

RESUMEN

Actualmente los biocompósitos que se utilizan en la Regeneración tisular guiada/Regeneración ósea guiada (RTG/TOG), debido a su rápida absorción a temperaturas corporales, tienden a perder su capacidad de mantener el espacio requerido en condiciones de humedad. Este inconveniente altera la cantidad de formación ósea y al mismo tiempo la integridad de la membrana, lo que provoca que pierda la función de barrera. Es necesario sintetizar y probar nuevos biomateriales con mejores propiedades biomecánicas: como la rigidez, la resistencia a la compresión, la degradación, la biocompatibilidad, las características superficiales, la absorción de diversos iones como el calcio. Además que la adhesión celular y proteica se vea beneficiada, proveer baja toxicidad, y así favorecer el proceso de diferenciación osteoblástica (osteogénesis). El uso de biocompósitos desempeña un papel importante en la regeneración ósea al no permitir que los tejidos blandos invadan las zonas de los defectos óseos y así favorecer la formación de hueso nuevo. Sin embargo, no todos se comportan de la misma manera, ya que se diferencian de su origen y estructura, con una notable respuesta en sus propiedades mecánicas y en su desempeño clínico.

El grafeno y sus derivados tienen un gran potencial como componente de diversos biocompósitos, poseen propiedades mecánicas, electrónicas y térmicas que los hacen únicos. Estos derivados se pueden ajustar químicamente para que sean biomiméticos y mecánicamente rígidos para brindar soporte a nuevos biomateriales. Estas propiedades hacen que los materiales basados en grafeno sean candidatos prometedores como componentes de nuevos biocompósitos utilizados para la regeneración ósea. El Óxido de grafeno (OG) contribuye a mejorar las propiedades mecánicas como la resistencia a la compresión de los biocompósitos, es osteoinductor y osteoconductor.

Los biocompósitos más estudiados son los andamios constituidos de OG, sin perder de vista las nuevas propuestas como los hidrogeles y las nanocintas, que bajo las condiciones de cada estudio resultan ser bastante prometedoras para la ROG.

Se debe promover la investigación para conocer más sobre las propiedades del grafeno y sus derivados. Establecer los límites entre seguridad y toxicidad. Conocer combinaciones con otros biomateriales que mejoren las propiedades de los biocompósitos, promover más estudios preclínicos y clínicos para eliminar o disminuir riesgos, que permitan evidenciar sus ventajas y desventajas con el fin de volverlos más seguros y eficientes para la regeneración ósea en humanos.

INTRODUCCIÓN

El hueso, uno de los tejidos más abundantes en el cuerpo humano, sirve principalmente para proporcionar soporte mecánico, proteger los órganos, producir células hematopoyéticas y depositar minerales, sin embargo, es un tejido que se daña fácilmente por traumatismos, osteoporosis, artritis, tumores u otras enfermedades.

La ingeniería de tejidos combina los principios y técnicas de la biología y la ciencia de los materiales que pueden ayudar en la regeneración de los tejidos dañados. La regeneración de tejido óseo juega un papel vital en la reparación y reemplazo de hueso a través de andamios, moléculas biológicas e implantes.

La regeneración segura y eficaz de los tejidos óseos en un defecto de tamaño crítico sigue siendo un gran desafío; por lo tanto, se requiere de la regeneración ósea guiada (ROG). Los biocompósitos juegan un papel fundamental en la ROG porque proporcionan soportes estructurales, influyen en el comportamiento de las células y sirven como plantillas en el proceso de curación ósea. Se definen como compuestos biocompatibles y/o ecológicos; reúnen de una gran variedad de componentes orgánicos y/o inorgánicos, como polímeros naturales y sintéticos, polisacáridos, proteínas, azúcares, cerámicas, metales y nanocarbonos.

El grafeno es un material que se evalúa entre otras cosas para la regeneración ósea. Hay tres tipos de grafeno: el óxido de grafeno (OG), el óxido de grafeno reducido (OGr) y el grafeno pristino (Gp). De las tres formas diferentes de grafeno, el OGr se ha estudiado más como biomaterial que mejora los comportamientos celulares, porque es biocompatible y tiene algunos grupos funcionales reactivos. Además, la toxicidad del OG se puede minimizar controlando su reducción.

El objetivo de esta revisión es analizar las investigaciones actuales sobre el uso de los biocompósitos con base en los derivados de grafeno combinados con distintos biomateriales confiables, de buena calidad, de bajo costo para poder sustentar futuras investigaciones que contribuyan al área odontológica. Especialmente en la regeneración ósea y que estén disponibles para mejorar la calidad de vida de la población que lo requiera.

CAPÍTULO I. MARCO CONTEXTUAL

Los defectos óseos resultantes de los traumatismos, las enfermedades, las cirugías o las malformaciones congénitas son un problema de salud importante en todo el mundo. El hueso es, de hecho, el segundo tejido más trasplantado después del tejido hemático. Varios países están experimentando actualmente la demanda extremadamente alta de injertos óseos y soluciones de ingeniería de tejidos óseos. En Estados Unidos y Europa, más de medio millón de pacientes reciben anualmente reparaciones de defectos óseos con un costo estimado en más de 3 mil millones de dólares (1).

En el campo de la odontología / estomatología, especialmente en la rehabilitación oral, enfrentan casos clínicos complejos, en donde los pacientes muchas veces han perdido más de un órgano dentario, y buscan una solución con tratamientos de prótesis fija con el uso de implantes. Sin embargo, en más de una ocasión este tipo de tratamientos no es posible debido a la gran pérdida ósea que se presenta en los maxilares debido a las enfermedades sistémicas y periodontales, los traumatismos y los tumores. Da como resultado un escaso volumen de hueso presente que modifica el plan de tratamiento y afecta los órganos dentarios remanentes. En este sentido, actualmente existen en el mundo una gran cantidad de biocompósitos de distintos materiales que son utilizados para la regeneración ósea, los cuales brindan características y propiedades diferentes. El estomatólogo debe tomar en cuenta estas diferencias para decidir cuál biocompósito es el ideal para promover la formación de hueso. Varios grupos de investigación en el mundo exploran el uso de combinaciones de materiales orgánicos e inorgánicos nuevos que promuevan la regeneración ósea con mayor eficiencia (2).

La investigación y experimentación en ingeniería de tejidos genera un impacto significativo en el área ambiental, comercial y económica, para proponer biocompósitos más eficientes y así planificar tratamientos más seguros en el área odontológica especialmente en implantología y periodoncia. Por lo que la presente revisión sirve de

sustento para futuras investigaciones acerca de nuevos materiales utilizados para la regeneración ósea.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1 Ingeniería de tejidos

La ingeniería de tejidos se define como la técnica que utiliza células aisladas, sustitutos, inductores de tejido y células colocadas sobre o en una matriz para reparar y regenerar tejido. El objetivo de la ingeniería de los tejidos es restaurar, regenerar, mantener o mejorar la función en el tejido defectuoso o tejido perdido debido a diferentes condiciones de enfermedad. Esto puede ser posible con el desarrollo de sustitutos biológicos o mediante la construcción de biocompósitos estructurales que inducen la regeneración (3).

Las estrategias de regeneración se pueden clasificar en tres grupos (Figura 1):

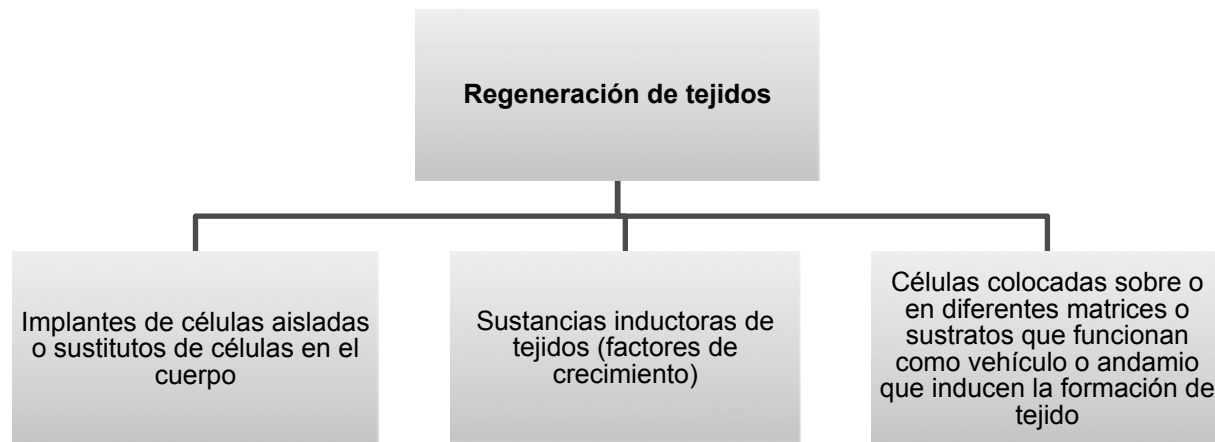


Figura 1. Estrategias de regeneración de los tejidos (modificado de Rodríguez-Vázquez et al. 2015) (3).

Así, el enfoque en la ingeniería de tejidos apunta al uso de biocompósitos compatibles, utilizados para reparar el tejido lesionado o tejido con malformaciones estructurales y también reforzar y en ciertos casos, organizar el tejido regenerador que funcione como un andamiaje para restaurar o regenerar el tejido dañado (3).

2.2 Biocompósitos para regeneración ósea

Los biocompósitos juegan un papel fundamental en la ROG porque proporcionan soportes estructurales, influyen en el comportamiento de las células y sirven como plantillas en el proceso de la curación ósea (4). Se definen como compuestos biocompatibles y/o ecológicos; se sintetizan a partir de una gran variedad de componentes orgánicos y/o inorgánicos, como polímeros naturales y sintéticos, polisacáridos, proteínas, azúcares, cerámicas, metales y nanocarbonos. Están presentes en diversas formas, como películas, membranas, andamios, revestimientos, partículas, fibras y espumas (4). Además de los estudios destinados a mejorar las propiedades mecánicas básicas y las funcionalidades de los materiales, se han realizado una gran cantidad de estudios para desarrollar materiales compuestos y / o materiales biomédicos ecológicos para su uso en los campos de sensores, ingeniería de tejidos, implantes y andamios (5).

Los biomateriales utilizados como andamios en la ingeniería de tejidos deben cumplir determinados requisitos o características (ver tabla 1) con el fin de que puedan realizar las funciones de promover interacciones célula-biomaterial; adhesión celular y extracelular. De esta manera permiten un transporte suficiente de gases, nutrientes y factores reguladores para la supervivencia; la proliferación y la diferenciación celular. Además, deben poseer una tasa de degradación controlable que este cerca de la tasa de regeneración del tejido de interés; e inducir una inflamación mínima (3).

La composición de los biocompósitos se selecciona con base en las combinaciones orgánico - inorgánico, orgánico - orgánico e inorgánico - inorgánico, según el propósito de la aplicación. Algunos ejemplos de biocompósitos orgánicos - inorgánicos son quitosano – hidroxiapatita (Qs- HAp), alginato (Alg)-HAp, glucosa oxidasa (GluO) -óxido de grafeno (OG). Ejemplos de biocompósitos orgánicos- orgánicos incluyen almidón-lignina, ácido poliláctico (PLA)-fibra lignocelulósica, almidón- alcohol polivinílico (PVA)- celulosa y Qs-celulosa. (5).

Tabla 1 Características que debe presentar un biomaterial para su uso en la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa (tomado de Rodríguez-Vázquez et al. 2015) (3).

CARACTERÍSTICAS	DESCRIPCIÓN
Biocompatibilidad	Deben ser aceptados por el receptor y no dar lugar a mecanismos de rechazo por su presencia.
Absorbibilidad y degradabilidad	Absorbible, con degradación controlable y la tasa de reabsorción que sea igual al crecimiento de células / tejidos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .
No ser tóxico ni cancerígeno	Sus productos de degradación no pueden causar efectos adversos locales o sistémicos en un sistema biológico.
Químicamente estable	Modificaciones químicas que no se presenten en el implante del sistema biológico, al menos durante el tiempo programado para regenerar el tejido.
Superficie químicamente adecuada	Tener una superficie químicamente adecuada para el acceso, la proliferación y la diferenciación celular.
Resistencia y propiedades mecánicas adecuadas	Resistencia y propiedades mecánicas, características superficiales, tiempo de fatiga y peso, según las necesidades del tejido receptor.
El diseño, tamaño y forma adecuados del andamio	Lo cual permite tener una estructura con propiedades acorde a las necesidades del tejido receptor para regenerarse o reparar.

2.3 El Grafeno y sus derivados

El grafeno es un material que se evalúa entre otras cosas para la regeneración ósea. Hay tres tipos de grafeno: el grafeno pristino (Gp), el óxido de grafeno (OG) y el óxido de grafeno reducido (OGr) (6).

El Gp es una fina capa de carbono puro producida principalmente por deposición química de vapor (CVD), por exfoliación del grafito (6), su característica principal es ser un material bastante hidrófobo y generar escamas muy resistentes (7).

El OG es una forma hidrófila oxidada de grafeno y, como su nombre lo indica, contiene grupos que contienen oxígeno (6). El OG tiene buena capacidad osteoconductora y osteoinductora para regular la diferenciación osteoblástica. Interactúa con la membrana celular para allanar el camino para la ingeniería de tejido óseo. Muestra diferenciación osteogénica espontánea, alta viabilidad y también mejora el proceso de biomineralización; ofrece alta resistencia mecánica, actividad antibacteriana y osteogénesis, incluso mejor que la HAp y los nanosilicatos (8). El uso de OG en los biocompuestos aumenta la resistencia a la compresión (9). La característica física del grafeno conocida como propiedad elástica y las características topográficas superficiales como arrugas y ondulaciones, puede facilitar el anclaje celular y por lo tanto promover la diferenciación de las células madre (10). Además, la alta conductividad térmica y eléctrica lo hace adecuado para aplicaciones biológicas (8).

El OGr se obtiene de la reducción de OG, que elimina los grupos que contienen oxígeno. De las tres formas diferentes de grafeno, el OGr se ha estudiado más como biomaterial que mejora los comportamientos celulares, porque es biocompatible y tiene algunos grupos funcionales reactivos (6).

El potencial de los materiales de la familia del grafeno ha captado una gran atención como revestimiento plano 2D o componente de andamios porosos 3D para la diferenciación de varios tipos de células madre hacia neurogénicas, condrogénicas, miogénicas, linajes adipogénicos y osteogénicos (11). Por lo tanto, es más probable que los materiales de la familia del grafeno sean candidatos de elección para la regeneración ósea (11).

CAPÍTULO III. MARCO REFERENCIAL

El grupo de Kim et al., en 2017 (6) realizaron un estudio *in vitro* para evaluar el efecto del fosfato cálcico bifásico (FCB) recubierto con OGr como materiales de injerto óseo en regeneración ósea. El material se fabricó con la mezcla de OGr y FCB a diversas concentraciones (28, 56 y 140 µg/ml). La viabilidad celular de osteoblastos MC3T3E1 disminuyó significativamente a concentraciones mayores a 100 µg/mL. Realizaron defectos óseos en la calota de ratas de la cepa Sprague Dawley donde se implantó el FCB recubierto con OGr en una relación en peso de 2:1000 (OGr2), 4:1000 (OGr4) y 10:1000 (OGr10), respectivamente, se utilizó FCB como grupo de control. La microtomografía (micro-TC) y el análisis histológico se realizaron para evaluar la formación de hueso nuevo a las 2 y 8 semanas después de la cirugía. Los resultados mostraron que el volumen de hueso nuevo (mm³) fue significativamente mayor en los grupos experimentales que en el grupo control. El análisis histológico mostró que las áreas de hueso nuevo eran significativamente más altas en OGr2 y OGr10 que en el control, y significativamente más altas en OGr-4 que en OGr-2 y OGr-10. Concluyeron que el FCB revestido con OGr es más eficaz sobre la osteogénesis que si se hubiera aplicado solo. Además, la concentración del compuesto fue un factor importante porque la formación de hueso nuevo pareció estar influenciada por la concentración de OGr.

Nie et al., en 2017 (12) prepararon un compósito poroso 3D a partir de OGr y nanohidroxiapatita (nHA), construyeron así un andamio biomimético para la reparación de defectos óseos. Los autores realizaron estudios detallados para evaluar su estructura, respuestas celulares, biocompatibilidad y eficiencia de reparación ósea *in vivo*, enfatizaron en la influencia del compuesto en el crecimiento y mineralización de células óseas *in vivo*. Los resultados demostraron que el andamio mejoró significativamente la proliferación, la actividad de la fosfatasa alcalina (ALP) y la expresión osteogénica de las células madre mesenquimales de hueso de rata, de sus siglas en inglés (rBMSC). Por otra parte, realizaron un experimento *in vivo* que demostró que los defectos circulares de 4 mm de diámetro en la calota de conejo a los que colocaron andamios de OGr-nHA se curaron después de 6 semanas de

implantación. La tomografía computarizada (TC) y el análisis histológico mostraron una mejor deposición de colágeno (COL), proliferación celular y formación de hueso nuevo. Sus resultados indicaron que estos andamios porosos tienen capacidad prometedora para estimular la mineralización y promover la curación del defecto *in vivo*.

Las nanocintas de OG (NOG) surgen como un interesante nanomaterial para aplicaciones biomédicas debido a la viabilidad de incorporar grupos funcionales (fosfatos y carbonatos) y posibles propiedades bactericidas. El grupo de Ricci et al., en 2017 (13) evaluó biológicamente nanocintas con altas concentraciones de NOG en osteoblastos humanos y bacterias gran positivas y negativas. Examinaron: (1) la vía sintética, (2) la caracterización y (3) los efectos de la composición de NOG y sus factores estructurales. Para ello, produjeron NOG a través de la deposición de vapor químico y el tratamiento con plasma oxigenado de nanotubos de carbono de paredes múltiples. Luego, analizaron la bioactividad, la viabilidad celular, la diferenciación osteogénica, la mineralización de la matriz, el ARNm de los cinco genes relacionados directamente con la reparación ósea y el efecto bactericida de altas concentraciones de NOG (10 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL y 300 µg/mL). Sorprendentemente, las NOG no mostraron efectos citotóxicos a la concentración de 100 µg/mL y ninguna alteración de la expresión génica. Sin embargo, se observó la reducción significativa en la expresión de los genes osteocalcina (OC), colágeno tipo I (COL I) y del Factor de transcripción 2 relacionado con Runt (RUNX2) involucrados en la vía de la osteogénesis y en el proceso de reparación de hueso. Lo que demuestra el efecto nocivo de altas concentraciones de NOG (200 µg/mL). También observaron que las bacterias de *S. aureus* y *E. coli* son susceptibles de dañarse cuando se incuban con 100 µg/mL de NOG, con aproximadamente el 50% de muerte bacteriana. Las NOG muestran propiedades atractivas cuando se usan en una dosis adecuada, presentan efecto bactericida y aparentemente no causa daños en el proceso de reparación ósea.

El grupo de López et al., en 2019 (14) realizaron pruebas de biocompatibilidad de andamios de quitosano (Qs)-OG y estudios de regeneración ósea en defectos de tamaño crítico en la calota de ratas Wistar. Prepararon e implantaron andamios hechos

de Qs, Qs-GO 0.5% y Qs-GO 1% en hueso craneal de ratas Wistar durante tres meses. Los andamios se analizaron mediante histoquímica y microscopía electrónica de barrido (MEB). Los andamios implantados de Qs y OG al 0,5% presentaron un mejor desarrollo de matriz extracelular y con mayores porcentajes de fósforo y calcio, componentes esenciales de la matriz ósea extracelular en el proceso de mineralización. El análisis realizado mostró formación de hueso nuevo simultánea a la reabsorción del material por actividad fagocítica. Estos hallazgos apoyan los resultados previos que muestran que la combinación de Qs y OG se considera uno de los nanocompuestos más prometedores en ingeniería de tejidos, debido al efecto sinérgico entre el Qs y las excelentes propiedades mecánicas de OG. Lo que explicaría la superioridad en la biocompatibilidad, estabilidad mecánica y térmica de los nanocompuestos Qs-OG en comparación con los andamios de Qs solamente.

El grupo de Arnold et al., en 2019 (15) construyó un andamio degradable, basado en el grafeno o derivados grafénicos funcionales (MGF), es decir un andamio de grafeno cargado con la proteína morfogenética ósea humana. La evidencia previa concluye que el grafeno que imita la composición química y mecánica de hueso promueve la diferenciación de células madre y conduce a la formación de hueso nuevo, por lo que el andamio se probó en un modelo animal. Los investigadores reportaron andamios intrínsecamente osteoinductivos para la regeneración ósea a partir de compuestos de materiales derivados grafénicos funcionales (MGF). Con un ácido de Lewis catalizaron la reacción de Arbuzov que permite un control sin precedentes de la funcionalización del OG para producir fosfato grafénico (PG) biomimético. El PG y específicamente, el calcio fosfato grafénico (CaPG) en condiciones acuosas liberan inductores, iones pequeños que inducen la osteogénesis, incluidos Ca^{+2} y PO_4^{-3} . Se demostró que el CaPG induce la osteogénesis *in vitro* en células madre mesenquimales humanas (hMSCs) en la misma medida que los factores de crecimiento. *In vivo*, se encontró que el CaPG también es intrínsecamente osteoinductivo cuando se implanta con BMSC. Además, la modificación no covalente de OG con rhBMP-2 mostró excelente osteoinductividad *in vivo*. Estos hallazgos demuestran el potencial de las MGF como andamios intrínsecamente osteoinductores

que apoyan la regeneración ósea a través del reclutamiento de células nativas en el sitio de la lesión y la promoción de la diferenciación de las células óseas. Este grupo lleva a cabo trabajos adicionales para procesar estos materiales en andamios personalizables y optimizar las cualidades osteoinductoras a través de la entrega sinérgica de la proteína ósea morfogenética humana recombinante tipo 2, por sus siglas en inglés (rhBMP-2) con CaPG. Este grupo de investigación propone que los andamios de MGF podrían cambiar la forma en que los médicos tratan las lesiones óseas graves y permiten que los pacientes se recuperen completamente a través de la regeneración completa del hueso funcional sano.

Xie et al., (2019) (10) obtuvieron grafeno por deposición de vapor químico, construyeron andamios de grafeno y evaluaron la capacidad de estos para promover diferenciación osteogénica de las células madre mesenquimales humanas, por sus siglas en inglés (hMSCs) específicamente de la pulpa dental humana *in vivo*. Ellos encuentran que el grafeno obtenido por deposición de vapor químico induce la diferenciación osteogénica de las células madre mesenquimales (MSC) debido a sus propiedades moleculares y propiedades físicas. El grafeno mejora las propiedades elásticas y las características de la superficie, sin la ayuda de los inductores osteogénicos considerados necesarios en otros andamios. Los andamios de grafeno también promueven la diferenciación osteogénica de las (MSC) *in vivo* en ratones de la cepa CB-17 SCID a las 4 semanas postimplantación. La osteogénesis se corroboró con la expresión positiva del RUNX2 y la osteopontina (OPN), marcadores clásicos de la diferenciación osteogénica. El primero es imprescindible para la diferenciación osteoblástica y la morfogénesis esquelética, mientras que la OPN es una proteína importante de la matriz ósea sintetizada por las células osteoblásticas. Las pruebas complementarias *in vitro* demostraron que el grafeno indujo la diferenciación osteogénica mediada por la activación de la vía mecanosensible de la integrina-FAK. Recordemos que tanto las integrinas como las proteínas FAK son sensibles a los estímulos físicos y a las propiedades elásticas de los sustratos. Se activa a la proteincinasa asociada a RhoA/Rho (ROCK1) como a la actina- F lo que estimula la fosforilación de Smad p1/5 y la expresión de RUNX2, la OPN y la osteocalcina (OCN)

para culminar en la osteogénesis. Estos atributos parecen ser inherentes a la hoja de grafeno monoatómico como cambios en el módulo elástico. Estos hallazgos profundizan la comprensión de los efectos del grafeno en los sistemas biológicos y amplían la posible disyuntiva del uso de este delgado material de un solo átomo para promover la osteogénesis sin las limitaciones del suministro de inductores químicos exógenos.

Zhang et al., en 2019 (4) generaron un nuevo andamio de poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) / β -fosfato tricálcico (β -TCP), OG y péptido similar a la proteína morfogenética ósea (BMP) -2 (PTG/P). El andamio se produjo mediante un método de impresión 3D criogénico para reparar un defecto óseo de tamaño crítico y lograr de manera eficiente la regeneración ósea personalizada. Los andamios que construyeron fueron mecánicamente comparables al hueso esponjoso humano, debido a que tenían una estructura porosa con macro y microporos controlados. Los péptidos cargados *in situ* retuvieron un alto nivel de actividad biológica durante un tiempo prolongado, debido a que la carga de OG en el andamio provocó aún más la liberación controlada del péptido para que fuera más sostenida. La resistencia a la compresión mejoró con el aumento del contenido de OG, lo que también mejoró la humectabilidad de la superficie. El estudio *in vitro* mostró que el andamio promovió el crecimiento de las células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea de rata, de sus siglas en inglés (rMSC) y mejoró la diferenciación osteogénica. Debido probablemente a que la liberación sostenida del péptido y la alta capacidad de adsorción de las nanohojas de OG fue favorable para el crecimiento óseo y promovió la proliferación y la adhesión de rMSC. Además, este andamio con suministro sostenido del péptido podría promover significativamente la regeneración ósea en un defecto óseo crítico (5 mm de diámetro) de ratas de la cepa Wistar. Estos resultados indican que los andamios PTG/P criogénicos impresos en 3D con una forma personalizada, resistencia mecánica mejorada, suministro de péptidos sostenible y excelente capacidad osteogénica tienen un gran potencial en la regeneración del tejido óseo.

El grupo de Wang et al., en 2019 (16) diseñaron compuestos de hidroxiapatita (HA) / grafeno hidrofílico (Gh), los sintetizaron sin introducción de iones adicionales con el método de autoensamblaje *in situ*. Las imágenes de la microscopía electrónica de transmisión (MET) y MEB mostraron la estructura espacial en forma de red debido a la fuerza de interacción interna entre HA y Gh, que proporcionó la tensión para la adhesión celular. Las propiedades de la superficie externa de los compuestos HA/Gh como la rugosidad y la capacidad hidrofílica (humectabilidad) disminuyeron gradualmente con el aumento en el contenido de Gh. Además, compararon la tasa de proliferación celular de este compuesto con el biocompuesto de solo HA, la mezcla HA/Gh al 5% (rica en grupos sulfónicos) indujo la tasa de proliferación celular más alta (264,81%) y promovió la propagación y el crecimiento de las células osteoblásticas MC3T3-E1. Lo que hace pensar que la proliferación y la adhesión celular podrían ajustarse al cambiar el contenido de Gh. El excelente comportamiento de los compuesto HA/Gh para la adhesión celular los convierte en candidatos prometedores para la reconstrucción y la reparación ósea.

Nanoandamios de OG magnetizado (OGM) que son la mezcla de OG y magnetita (Fe_3O_4) fueron caracterizados por el grupo de He et al., en 2019 (17). Este grupo encontró que las nanopartículas esféricas de OGM con diámetro de 15nm no tuvieron efectos secundarios significativos sobre la apoptosis, necrosis y proliferación celular a una concentración inferior a 1 $\mu\text{g/ml}$, por lo que son biocompatibles con las células madre mesenquimales de la médula ósea (BMSC). Las nanopartículas de OGM por sí solas no pudieron promover la diferenciación osteogénica en las BMSC, esto porque no lograron inducir la expresión de la fosfatasa alcalina (marcador de diferenciación osteogénica). Si se acompañan de medio inductor osteogénico (MIO) pueden acelerar la diferenciación osteoblástica, en donde 0.1 $\mu\text{g/ml}$ parece ser la concentración más adecuada. A esta concentración se aceleró la deposición de calcio y el grado de mineralización fue mayor. Proponen que la activación de la vía de señalización de Wnt / beta-catenina y la BMP2 están posiblemente relacionadas a las actividades osteogénicas de las nanopartículas de OGM. La vía de señalización de Wnt / beta -catenina contribuye a la expresión del ARNm de RUNX2 mientras que la

molécula de BMP2 está involucrada en la formación de hueso al inducir factores de transcripción como RUNX2. Aunque aún no se tiene del todo claro si las nanopartículas de OGM pueden inducir la osteogénesis a través de la activación de esta vía. Encontraron que los efectos de OGM para promover la diferenciación osteogénica fueron mucho más fuertes que los de OG, así como promueven la mayor mineralización. Estos hallazgos apoyan el concepto de que los andamios nanocompuestos OGM podrían promover la diferenciación osteogénica de BMSC, que posiblemente podría aplicarse para pacientes con defectos óseos, previo a esto es necesario realizar experimentos *in vivo* para la verificación adicional de la inducción de la diferenciación osteogénica por nanopartículas de OGM.

Los nanocompuestos basados en grafeno han atraído gran interés en las aplicaciones biomédicas debido a sus extraordinarias propiedades físicas, eléctricas y químicas, gran superficie y pureza química. En consecuencia, la mezcla de grafeno o sus derivados con cementos de fosfato de calcio (CFC) pueden ser una forma eficaz de mejorar las propiedades mecánicas, la estabilidad, la trabajabilidad de los CFC, la osteoconductividad, la adhesión, la proliferación y la diferenciación celular. Los CFC se utilizan ampliamente para rellenar los huecos de los huesos para la fijación de fracturas. Sin embargo, el daño estructural del grafeno durante el proceso de sinterización de la cerámica y la dispersión desigual del grafeno en la matriz (debido a las fuerzas de Van der Waals entre las capas de grafeno) son los principales problemas de su utilización. Partiendo de esta idea Oğuz y Ege en 2019 (18) prepararon matrices poliméricas a base de metilcelulosa y gelatina con distintos porcentajes de OG para lograr la dispersión homogénea y estable del OG en cementos de fosfato de calcio (CFC). Ellos lograron de esta manera mejorar las propiedades físicas y biológicas de los sustitutos de hueso inyectables (SHI). La adición de OG redujo significativamente el tiempo de fraguado de los cementos, mejoró la degradación *in vitro* y las propiedades reológicas a 37°C. Aunque el módulo de compresión de los diferentes grupos de estudio no presentó ninguna diferencia significativa, los valores encontrados estuvieron dentro del rango de hueso trabecular. El OG al 1% y OG al 1.5 % mostraron una mayor estabilidad, trabajabilidad, propiedades reológicas y biocompatibilidad más que las

otras concentraciones agregadas a las muestras de SHI. Por lo tanto, la cantidad óptima de OG de la fase líquida y en polvo fue entre el 1 y 1.5 % en peso. El mejoramiento adicional de las propiedades mecánicas pudo lograrse mediante la modificación de la superficie del OG. Aun así, concluyen que se necesita más investigación de la aplicación de este material inyectable para la regeneración ósea en otras líneas celulares y en animales *in vivo*.

Actualmente se investigan aerogeles híbridos hechos de materiales naturales o sintéticos, principalmente en el campo de la adsorción física o la liberación controlada de fármacos. De hecho, el aerogel también es un potencial bioandamio para la regeneración de tejidos debido a su alta estructura porosa, lo que facilita la absorción de más agua o nutrientes para el intercambio de sustancias. El grupo de Liu et al., en 2019 (19), fabricaron aerogeles de OG – colágeno (COL) con diferentes concentraciones de OG, los cuales mostraron microestructura interconectada con porosidad del 90 %. Los hallazgos revelaron que los aerogeles porosos de OG-COL (0.05% OG-COL, 0.1% OG-COL, 0.2% OG-COL exhibieron una microestructura plegada única, buena tasa de adhesión celular, nula toxicidad y su módulo elástico mejoró con el aumento de la concentración de OG. Para el estudio *in vitro*, el aerogel de OG-COL al 0,1% mostró una mejor bioactividad y compatibilidad celular que otros grupos de aerogeles. Además, el aerogel de OG – COL 0,1% / 0,2% presentó un mejor efecto de reparación ósea que el aerogel de COL en modelos de defectos craneales de rata. Este estudio demostró que el aerogel OG – COL al 0,1% presenta biocompatibilidad y capacidad osteogénica relativamente buenas *in vitro* e *in vivo*, lo que lo convierte en un bioandamio prometedor para la ingeniería de tejidos óseos y la medicina regenerativa.

Andamios compuestos de fluoruro de polivinilideno (PVDF) y OG fueron fabricados mediante la técnica de sinterización selectiva por láser (SSL) por el grupo de Shuai et al., en 2020 (20). El PVDF es un polímero piezoeléctrico típico, tiene un gran

potencial para reconstruir el microambiente eléctrico del tejido óseo. Los resultados de este grupo demostraron que las interacciones a través de enlaces de hidrógeno entre el flúor del PVDF y el grupo carbonilo de las nanohojas de OG indujo la transformación de la fase alfa a la beta, lo que resulta en un mejor rendimiento de salida eléctrica. El cultivo celular *in vitro* confirmó que el andamio compuesto de PVDF / 0.3 OG podría promover de manera eficiente las funciones celulares mediante la generación de estimulación eléctrica en condiciones de ultrasonido. Estos andamios exhiben una mejora significativa en la resistencia a la tracción y la resistencia a la compresión, que se incrementan en un 24,5% y un 97,9%, respectivamente, en comparación con los andamios con solo PVDF. Esto podría atribuirse a las fuertes interacciones entre el oxígeno de los grupos funcionales del OG y el flúor de las cadenas de PVDF. Además, la propiedad hidrófila del andamio de PVDF también se mejoró significativamente con la adición de OG caracterizado por poseer buena hidrofiliidad y bioactividad.

Liu et al., en 2020 (21) fabricaron una serie de andamios basados en fibroína de seda (SF) aislada de proteína de soja (SPI), caracterizada por ser un polímero natural con excelente biocompatibilidad y degradabilidad controlable. Ellos incorporaron nanopartículas de fosfato tricálcico (β -TCP) biocompatibles, osteoconductoras, bioabsorbibles lo cual les permite fijarse rápidamente al hueso. El OG, como se ha dicho antes posee biocompatibilidad favorable y propiedades fisicoquímicas estables. La incorporación de β -TCP aumentó significativamente el tamaño de los poros y la resistencia a la compresión, mientras que la incorporación de OG mejoró la adsorción de agua de estos andamios. Más específicamente, la incorporación simultánea de partículas de β -TCP y OG facilitó la biomineralización con un efecto sinérgico para la adhesión, la proliferación y la diferenciación osteogénica de las células madre mesenquimales de médula ósea (BMSC). Este grupo también demostró que la combinación de las nanopartículas de OG y β -TCP posee un efecto sinérgico en la osteogénesis de las BMSC en comparación con las nanopartículas de OG o β -TCP solas, por lo que se espera que los andamios de SF/SPI, GO y β -TCP sean buenos candidatos para la regeneración del tejido óseo.

El grupo de Qi et al., en 2020 (22), diseñaron y sintetizaron un hidrogel compuesto de sericina metacrilato y OG (HSM/OG) foto-reticulado como un sustituto de hueso artificial. Este sustituto promueve la diferenciación osteogénica y dirige la migración de las células madre mesenquimales óseas, por sus siglas en inglés (BMSC), para una reparación ósea eficaz en un modelo de defecto calvarial de ratas de la cepa Sprague Dawley. Este hidrogel altamente poroso posee las propiedades ventajosas de la sericina, como buena biocompatibilidad, biodegradación aceptable, buena adhesión celular y promoción de la proliferación celular. Estos hidrogeles compuestos poseen propiedades mecánicas sintonizables para la regeneración del tejido óseo, son capaces de facilitar la osteogénesis a través de la regulación de la migración de BMSC autólogas y la diferenciación osteogénica. Entre las vías favorecidas a través de la regulación positiva de genes en los grupos tratados con hidrogel HSM/OG, identificaron tres vías de señalización críticas asociadas con la migración de BMSC y la diferenciación de la osteogénesis. Las vías son: la de señalización de las proteínas quinasas activadas por mitógenos, por sus siglas en inglés (MAPK), la del factor de necrosis tumoral (TNF) y la de las quimiocinas. Por lo que sugieren que estos hidrogeles pueden ser un nuevo tipo de sustituto de hueso efectivo, seguro y económico para la regeneración ósea eficaz.

La mezcla de OG-COL es un material biocompatible con citotoxicidad insignificante, y varios tipos de células pueden sobrevivir y diferenciarse en estos andamios. Lo anterior lo demuestran los estudios de Fang et al. (2020), quienes crearon un novedoso modelo de cámara biocompatible de COL (0.2 %) y OG (2%) vascularizado, que mejoró el proceso de osteogénesis de células BMSC, disminuyó la quimiotaxis de macrófagos y promovió un efecto antifibroso que condujo a mejorar la regeneración del hueso. En el grupo de OG-COL, hubo mineralización ósea significativa, reacción inflamatoria más leve y más células supervivientes que en los grupos controles: con implantes tradicionales de silicona y sin cámara. Este estudio mostró que las cámaras de ingeniería de tejidos biocompatibles pueden ofrecer un microambiente personalizado, una propiedad que es vital en la investigación de la medicina regenerativa (9).

En la tabla 2, donde se muestran los principales biocompuestos compuestos de derivados del grafeno y otros materiales, así como el efecto reportado.

Tabla 2. Biocompuestos elaborados con grafeno y/o alguno de sus derivados y el efecto reportado.

Presentación del biocompuesto	Autores	Tipo de grafeno	Composición	Efecto reportado
Membranas y películas	Prakash et al. (8)	Óxido de grafeno	Nanocompuestos de óxido de grafeno, hidroxiapatita y oro sobre película de quitosano	Antibacteriano y estimulante de osteoblastos

Andamios	Arnold et al. (15)	Óxido de grafeno	Fosfato grafénico biomimético.	Osteogénesis, Osteoinducción
	Liu et al. (21)	Óxido de grafeno	Fibroína de seda, fosfato tricálcico y óxido de grafeno.	Osteogénesis
	Xie et al. (10)	Óxido de grafeno	Grafeno por deposición de vapor químico	Osteogénesis
	Zhang et al. (4)	Óxido de grafeno	PLGA, fosfato tricálcico, óxido de grafeno y péptido similar a la BMP.	Osteogénesis, resistencia mecánica mejorada.
	He et al. (17)	Óxido de grafeno	Nanoandamios de Óxido de grafeno y magnetita	Probable diferenciación osteogénica.
	Kim et al. (6)	Óxido de grafeno	Injerto óseo de fosfato cálcico bifásico y óxido de grafeno reducido	Osteogénesis
	López et al. (14)	Óxido de grafeno	Quitosano y óxido de grafeno	Formación de hueso nuevo
	Nie et al. (12)	Óxido de grafeno	Óxido de grafeno y nano hidroxapatita	Proliferación celular y formación de hueso nuevo
	Shuai et al. (20)	Óxido de grafeno	Fluoruro de polivinilideno y óxido de grafeno	Resistencia a la tracción y compresión, hidrofiliidad y bioactividad.
Hidrogeles y aerogeles	Qi et al. (22)	Óxido de grafeno	Sericina metacrililoilo y óxido de grafeno foto-reticulado.	Osteogénesis
	Liu et al. (19)	Óxido de grafeno	Óxido de grafeno y colágeno	Biocompatibilidad y capacidad osteogénica

Otros biocompósitos	Wang et al. (16)	Grafeno hidrofílico	Compuestos de hidroxiapatita y grafeno hidrofílico	Propagación y crecimiento de osteoblastos.
	Fang et al. (9)	Óxido de grafeno	Cámara vascularizada de colágeno y óxido de grafeno	Osteogénesis, menor quimiotaxis de macrófagos y efecto anti fibroso.
	Oğuz y Ege (18)	Óxido de grafeno	Matrices de metilcelulosa, gelatina y óxido de grafeno	Mejora de tiempo de fraguado, degradación y propiedades reológicas.
	Ricci et al. (13)	Óxido de grafeno	Nanocintas de óxido de grafeno	Bactericida

CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA Y ANÁLISIS

Se desarrolló un protocolo de búsqueda bibliográfica basado en la estrategia PICO (tabla 3), seguido de una serie de etapas (figura 3).

Tabla 3. Estrategia PICO

Acrónimo	Definición	Descripción
P	Problema	Necesidad de nuevos biomateriales con mejores propiedades mecánicas para promover regeneración ósea, menos citotóxicos, menos costosos, más biocompatibles, con capacidad para liberación prolongada de fármacos.
I	Intervención	Búsqueda de biocompósitos a base de nuevos biomateriales o nanomateriales derivados de grafeno combinados con otros biomateriales que se estén probando para promover la regeneración ósea: andamios, membranas, hidrogeles, esponjas, espumas, etc.
C	Comparación	Combinaciones de los derivados del grafeno con otros biomateriales que han dado los mejores resultados para la regeneración ósea.
O	Resultados	Resultados observados a través de radiografía o tomografía, marcadores de remodelado óseo, etc., que indican su eficacia y eficiencia en la regeneración ósea en modelos animales y en humanos.

Se realizaron búsquedas computarizadas en las bases de datos electrónicas: Pubmed, Science Direct, EBSCO, Scopus, Springer, Willey, Scientific Reports, Cambridge y Scielo. También se realizó una búsqueda secundaria manual en el apartado de las referencias de los artículos seleccionados. Se utilizaron descriptores en inglés según la base de datos Decs/Mesh, mediante el uso combinado de booleanos AND/OR/NOT, truncamientos y comillas; los términos de búsqueda fueron: *Bone regeneration, Bone defect, Bone injert, Autologous bone, Biological scaffold, Biological membrane, Biomaterials, Nanomaterials, Graphene, Oxide of graphene, Reduced graphene oxide, Biocomposites*. Dentro del contexto de odontología basada en la evidencia científica se incluyeron aquellos estudios que cumplieran las siguientes características: estudios experimentales *in vivo* o *in vitro*, con suficiente calidad metodológica de acuerdo con Bobenrieth Astete (2002) (23); estudios en idioma inglés

de 2016 a 2020. Se obtuvieron un total de 50 artículos, se excluyeron las revisiones bibliográficas y sistemáticas y estudios piloto. Los textos íntegros de los estudios se leyeron para valorar su elegibilidad según los criterios de inclusión, de los cuáles los duplicados fueron eliminados. Al revisar las referencias de estos artículos encontramos 4 artículos más que cumplieron con los criterios de elegibilidad, por lo que, el total de artículos incluidos fueron 54, y después de la evaluación quedaron un total de 16 artículos para la presente revisión bibliográfica.



Figura 3. Cronología para la elaboración de la revisión bibliográfica.

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La ingeniería de tejidos óseos y la investigación de la medicina regenerativa proveen alternativas para mejorar los resultados y acelerar la recuperación de los pacientes con defectos óseos. Por lo que, para aumentar el volumen óseo en las áreas de defecto, se han desarrollado una variedad de métodos para la regeneración ósea, que incluyen andamios, membranas, hidrogeles, nanocompuestos, nanocintas y revestimientos para la regeneración ósea guiada (2)(15).

La aplicación de grafeno y sus derivados para la restauración de defectos óseos es un tratamiento novedoso en el campo de la medicina regenerativa. En el campo de la odontología, amplía el panorama para la elaboración de biocompósitos con propiedades físicas y químicas que promuevan de manera eficiente la formación de hueso nuevo. La presente revisión muestra la necesidad de profundizar en la combinación de dos o más biomateriales y sobre todo estudiar la concentración de sus componentes para potencializar las características de cada uno y evaluar la interacción al combinarlos (17)(13).

El rango de concentración de OG utilizado en la construcción de los distintos biocompósitos es de 0.001 % a 2 % (4) (9) (9) (13) (14) (16) (17) (18) (19) (20) (21) , OGr al 0.35% (12) y POG al 0.1 % (15), en este contexto este rango es amplio y debe tenerse en cuenta el tipo de biocompósito, la metodología para su construcción, las características superficiales, el tamaño del poro, el tiempo de exposición, el indicador bioquímico usado para evidenciar su participación en la ROG y la combinación con otros biomateriales. Lo anterior para precisar la concentración apropiada sin la presencia de toxicidad.

Los biocompósitos más elaborados con las distintas mezclas que incluyeron algunos de los derivados del grafeno son los andamios (4) (6) (10) (12) (14) (15) (17) (20) (21), esto seguramente porque se han evidenciado en estudios previos sus grandes cualidades, como la morfología superficial que puede influir en la adhesión, la

proliferación e incluso la diferenciación celular (24). Se ha demostrado que los andamios porosos con un tamaño de macroporo de 100 a 500 μm facilitan el transporte de nutrientes, la sustitución progresiva del hueso y el crecimiento vascular (25)(26). En adición, la microestructura superficial y la rugosidad de los andamios son favorables para la unión celular inicial, la adhesión y la extensión (4). En la presente revisión encontramos que no todos los autores reportan el tamaño promedio del poro, solo 4 investigaciones muestran diámetros promedio de 20 a 500 μm , lo cual está dentro del rango reportado como óptimo. A excepción de los resultados de Nie et al. (12) que reportan un rango promedio de 20 a 100 μm , ellos utilizaron OG con el objetivo de fortalecer las propiedades mecánicas del biocompósito y mejorar la caracterización fisicoquímica.

Los biocompósitos más novedosos que actualmente se están probando son los hidrogeles, aerogeles, las nanocintas, y los sustitutos óseos inyectables, en su composición destacan la presencia de OG. Los hidrogeles destacaron porque junto con la sericina metacrililo facilitaron la diferenciación osteogénica *in vitro* (22). En el caso de los aerogeles de OG y COL lo que se destaca es la mejor adhesión celular, la baja toxicidad y el mejoramiento del módulo elástico (19). Finalmente las nanocintas de OG con la posibilidad de incorporar grupos funcionales de fosfatos y carbonatos, mostraron la reducción significativa en la expresión de los genes osteocalcina (OC), COL tipo I y RUNX2 involucrados en la vía de la osteogénesis, en consecuencia, en el proceso de reparación de hueso. Lo que demuestra el efecto nocivo de altas concentraciones de NOG (200 -300 $\mu\text{g/mL}$) (13). Los estudios de Oguz y Ege (18) aportan información importante en relación con la utilización del OG como parte de un sustituto óseo inyectable compuesto de cementos de fosfato de calcio. Este sustituto presentó mejoría en sus propiedades físicas (tiempo de fraguado y resistencia a la compresión, mejoró las propiedades reológicas) y biológicas (mejoró la degradación *in vitro*). Sin embargo, no afectó significativamente la resistencia a la compresión de las muestras, por lo que concluimos al igual que ellos en la necesidad de realizar más estudios al respecto (18). Si bien es cierto que estos biocompósitos destacan por su creatividad, es necesario

precisar las concentraciones adecuadas para promover la regeneración ósea sin la posibilidad de toxicidad.

En relación con las membranas, los materiales de la familia del grafeno mejoran las malas propiedades mecánicas de las membranas reabsorbibles hechas de COL o QS, así como un efecto sinérgico que facilita la recuperación del tejido, dichas propiedades fueron demostradas en el estudio de López et al., en 2019 (14). Uno de los desafíos encontrados en los estudios de Fang et al., en 2020 (9) radica en comprender como se comportan los materiales de la familia del grafeno en un microambiente.

Las investigaciones *in vivo* realizadas para probar los distintos biocompósitos se realizaron en modelos murinos principalmente. En defectos óseos en la calota de rata, aplicaron membranas (6), andamios (4) (14), hidrogeles (22) aerogeles (19), en el fémur y tibia (9). En conejos aplicaron andamios en la calota (12). Estos estudios mostraron que estos biocompósitos tuvieron la capacidad de inducir solo osteogénesis (4) (6) (9) osteogénesis y biocompatibilidad (14) (19), osteoinducción, biocompatibilidad y adhesión celular (22) y solo osteoinducción (12). Esto son resultados positivos alentadores para la regeneración ósea. Sin embargo, es necesaria la realización de más investigación en modelos animales que brinden la suficiente evidencia para pasar a las aplicaciones en los humanos. Se necesita continuar haciendo estudios de la bioseguridad de los materiales de la familia del grafeno *in vivo*, así como *in vitro*, para comprender mejor la interacción entre las células y los materiales. También es necesario determinar la biocompatibilidad a largo plazo del grafeno y sus derivados y la combinación con otros compuestos.

Lo anterior apoya la investigación a corto y mediano plazo en más modelos animales que permita reunir la suficiente evidencia para pasar a la fase clínica en humanos. Al respecto, en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, se desarrolla una línea de investigación de nuevos biomateriales que promuevan la formación de hueso. Con base en las investigaciones previas que se mencionan en esta revisión, se realizó

la síntesis de OG a partir de grafito puro por medio de la técnica de Hummers modificada. Se han elaborado membranas de COL – Qs mediante la síntesis de evaporación y electrohilado con una concentración de: Qs 1.5% colágeno de pescado <3.5%, así como pruebas de caracterización mediante SEM, y estandarización de defectos óseos simples y críticos en la calota y la sínfisis mandibular de modelos murinos. Los resultados de la síntesis de OG fueron presentados en el congreso “*VII Jornadas Internacionales de Investigación en Odontología 2020*” de la universidad autónoma de Zacatecas.

Finalmente se concluye que el OG contribuye a mejorar las propiedades mecánicas como la resistencia a la compresión de los biocompósitos, es osteoinductor y osteoconductor. Además, la estrategia de aplicar algún derivado de grafeno sobre una superficie se espera que posea la suficiente capacidad antibacteriana y una mejor osteointegración especialmente en biocompósitos 3D.

Los biocompósitos más estudiados son los andamios constituidos de OG, sin perder de vista las nuevas propuestas como los hidrogeles y las nanocintas que bajo las condiciones de cada estudio resultan ser bastante prometedoras para la ROG.

Se debe promover la investigación para conocer más sobre las propiedades del grafeno y sus derivados. Establecer los límites entre seguridad y toxicidad. Conocer combinaciones con otros biomateriales que mejoren las propiedades de los biocompósitos, promover más estudios preclínicos y clínicos para eliminar o disminuir riesgos, que permitan evidenciar sus ventajas y desventajas con el fin de volverlos más seguros y eficientes para la regeneración ósea en humanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Haugen HJ, Lyngstadaas SP, Rossi F, Perale G. Bone grafts: ¿which is the ideal biomaterial? *J Clin Periodontol.* 2019;46 Suppl 21:92–102.
2. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur J Oral Sci.* 2017;125(5):315–37.
3. Rodríguez-Vázquez M, Vega-Ruiz B, Ramos-Zúñiga R, Saldaña-Koppel DA, Quiñones-Olvera LF. Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine. *Biomed Res Int.* 2015;2015:821279.
4. Zhang Y, Wang C, Fu L, Ye S, Wang M, Zhou Y. Fabrication and application of novel porous scaffold in situ-loaded graphene oxide and osteogenic peptide by cryogenic 3D printing for repairing critical-sized bone defect. *Molecules.* 2019;24(9):1669.
5. Haraguchi K. Biocomposites. En: *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. 1–8.
6. Kim J-W, Shin YC, Lee J-J, Bae E-B, Jeon Y-C, Jeong C-M, et al. The effect of reduced graphene oxide-coated biphasic calcium phosphate bone graft material on osteogenesis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2017;18(8). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18081725>.
7. Bourdo SE, Al Faouri R, Sleezer R, Nima ZA, Lafont A, Chhetri BP, et al. Physicochemical characteristics of pristine and functionalized graphene. *J Appl Toxicol.* 2017;37(11):1288–96.
8. Prakash J, Prema D, Venkataprasanna KS, Balagangadharan K, Selvamurugan N, Venkatasubbu GD. Nanocomposite chitosan film containing graphene oxide/hydroxyapatite/gold for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol.* 2020;154:62–71.
9. Fang H, Luo C, Liu S, Zhou M, Zeng Y, Hou J, et al. A biocompatible vascularized graphene oxide (GO)-collagen chamber with osteoinductive and anti-fibrosis effects promotes bone regeneration in vivo. *Theranostics.* 2020;10(6):2759–72.
10. Xie H, Cao T, Franco-Obregón A, Rosa V. Graphene-induced osteogenic differentiation is mediated by the integrin/FAK axis. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3):574.

11. Cheng X, Wan Q, Pei X. Graphene family materials in bone tissue regeneration: Perspectives and challenges. *Nanoscale Res Lett.* 2018;13(1):289.
12. Nie W, Peng C, Zhou X, Chen L, Wang W, Zhang Y, et al. Three-dimensional porous scaffold by self-assembly of reduced graphene oxide and nano-hydroxyapatite composites for bone tissue engineering. *Carbon N Y.* 2017;116:325–37.
13. Ricci R, Leite NCS, da-Silva NS, Pacheco-Soares C, Canevari RA, Marciano FR, et al. Graphene oxide nanoribbons as nanomaterial for bone regeneration: Effects on cytotoxicity, gene expression and bactericidal effect. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017;78:341–8.
14. López Tenorio D, Valencia CH, Valencia C, Zuluaga F, Valencia ME, Mina JH, et al. Evaluation of the biocompatibility of CS-graphene oxide compounds in vivo. *Int J Mol Sci.* 2019;20(7):1572.
15. Arnold AM, Holt BD, Daneshmandi L, Laurencin CT, Sydlik SA. Phosphate graphene as an intrinsically osteoinductive scaffold for stem cell-driven bone regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116(11):4855–60.
16. Wang P, Yu T, Lv Q, Li S, Ma X, Yang G, et al. Fabrication of hydroxyapatite/hydrophilic graphene composites and their modulation to cell behavior toward bone reconstruction engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2019;173:512–20.
17. He Y, Li Y, Chen G, Wei C, Zhang X, Zeng B, et al. Concentration-dependent cellular behavior and osteogenic differentiation effect induced in bone marrow mesenchymal stem cells treated with magnetic graphene oxide. *J Biomed Mater Res A.* 2020;108(1):50–60.
18. Oğuz ÖD, Ege D. Preparation of graphene oxide-reinforced calcium phosphate/calcium sulfate/methylcellulose-based injectable bone substitutes. *MRS Commun.* 2019;9(4):1174–80.
19. Liu S, Zhou C, Mou S, Li J, Zhou M, Zeng Y, et al. Biocompatible graphene oxide-collagen composite aerogel for enhanced stiffness and in situ bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;105(110137):110137.
20. Shuai C, Zeng Z, Yang Y, Qi F, Peng S, Yang W, et al. Graphene oxide assists polyvinylidene fluoride scaffold to reconstruct electrical microenvironment of bone tissue. *Mater Des.* 2020;190(108564):108564.
21. Liu F, Liu C, Zheng B, He J, Liu J, Chen C, et al. Synergistic effects on incorporation of β -tricalcium phosphate and graphene oxide nanoparticles to silk fibroin/soy protein isolate scaffolds for bone tissue engineering. *Polymers (Basel).* 2020;12(1):69.

22. Qi C, Deng Y, Xu L, Yang C, Zhu Y, Wang G, et al. A sericin/ graphene oxide composite scaffold as a biomimetic extracellular matrix for structural and functional repair of calvarial bone. *Theranostics*. 2020;10(2):741–56.
23. Bobenrieth Astete MA. Normas para revisión de artículos originales en Ciencias de la Salud. *Int J Clin Health Psychol*. 2002;2(3):509–23.
24. Shi X, Hudson JL, Spicer PP, Tour JM, Krishnamoorti R, Mikos AG. Injectable nanocomposites of single-walled carbon nanotubes and biodegradable polymers for bone tissue engineering. *Biomacromolecules*. 2006;7(7):2237–42.
25. Nair M, Nancy D, Krishnan AG, Anjusree GS, Vadukumpully S, Nair SV. Graphene oxide nanoflakes incorporated gelatin-hydroxyapatite scaffolds enhance osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Nanotechnology*. 2015;26(16):161001.
26. Baskar K, Anusuya T, Devanand Venkatasubbu G. Mechanistic investigation on microbial toxicity of nano hydroxyapatite on implant associated pathogens. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;73:8–14.



Universidad Autónoma de Zacatecas
 Área de Ciencias de la Salud
 Unidad Académica de Odontología



“VII Jornadas Internacionales de Investigación en Odontología, 2020”

Entregan la presente

CONSTANCIA DE PONENTE DE CARTEL

A: RAÚL BASTIDA HERNÁNDEZ, JULIA FLORES TOCHIHUITL;
 FELIPE CORDOBA LOZANO; JOSÉ ANTONIO ROSAS GARCÍA

SINTESIS DE ÓXIDO DE GRAFENO PARA ADICIONAR A
 MEMBRANAS DE COLÁGENO EN REGENERACIÓN ÓSEA

Por haber presentado la ponencia en cartel _____
 durante las **VII Jornadas Internacionales de Investigación Odontológicas, 2020**, realizadas por la Unidad Académica de
 Odontología de la Universidad Autónoma de Zacatecas, los días 11, 12 y 13 de Noviembre del 2020.

Libro: 1 Foja: 11 Folio: 242 Horas Crédito: 30

Dr. José Luis Elías Salazar
 Director de la UAO/UAM

Dr. Antonio Guzmán Fernández
 Rector de la UAZ

Dr. Eduardo Medrano Cortés
 Coordinador General

