



[Int J Mol Sci.](#) 2018 Nov; 19 (11): 3564.

Publicado en línea 2018 Nov 12. doi:

PMCID:

PMID: [30424535](#)

Grafeno Nanomateriales: Síntesis, Biocompatibilidad y citotoxicidad

[Chengzhu Liao](#),^{1,*} [Yuchao Li](#),² y [Sie Chin Tjong](#) *

[Autor Notas del artículo](#) [Información de Derechos y Licencia](#) [PMC Descarga de responsabilidad](#)

[Ir a:](#)

Resumen

El grafeno, el óxido de grafeno y el óxido de grafeno reducido han sido ampliamente considerados como candidatos prometedores para aplicaciones industriales y biomédicas debido a su rigidez y resistencia mecánica excepcionalmente altas, excelente conductividad eléctrica, alta transparencia óptica y buena biocompatibilidad. En este artículo, revisamos varias técnicas disponibles para la síntesis de nanomateriales a base de grafeno, y discutimos la biocompatibilidad y toxicidad de tales nanomateriales al exponerse a células de mamíferos bajo condiciones *in vitro* e *in vivo*. Se han desarrollado diversas estrategias de síntesis para su fabricación, generando nanomateriales de grafeno con diferentes propiedades químicas y físicas. Como tal, sus interacciones con las células y los órganos se alteran en consecuencia. En la literatura se han reportado resultados contradictorios relacionados con la biocompatibilidad y citotoxicidad inducidas por nanomateriales de grafeno. En particular, los nanomateriales de grafeno que se utilizan para el cultivo celular *in vitro* y los modelos animales *in vivo* pueden contener residuos químicos tóxicos, interfiriendo así interacciones grafeno-células y complicando la interpretación de los resultados experimentales. Las técnicas sintetizadas, como la exfoliación de fase líquida y la oxidación química húmeda, a menudo requerían disolventes orgánicos tóxicos, tensioactivos, ácidos fuertes y oxidantes para exfoliar copos de grafito. Esas moléculas orgánicas e impurezas inorgánicas que se conservan en los productos finales de grafeno pueden interactuar con células y tejidos biológicos, induciendo toxicidad o causando la muerte celular eventualmente. Los contaminantes residuales pueden causar un mayor riesgo de toxicidad inducida por grafeno en las células biológicas. Este efecto adverso puede ser en parte responsable de las discrepancias entre diversos estudios en la literatura.

Palabras clave:

[Ir a:](#)

1. Introducción

La nanotecnología es un campo multidisciplinario de investigación que abarca varias disciplinas diversas, como biología, química, ingeniería, materiales, ciencias médicas y física. En particular, la nanotecnología implica la creación y el desarrollo de materiales y dispositivos novedosos mediante la manipulación de propiedades y funciones de materia a escala de nanómetro. En esta escala, los comportamientos químicos, mecánicos, físicos y biológicos de los materiales difieren sustancialmente de sus contrapartes de materia a granel. La nanotecnología es una gran promesa para el desarrollo y síntesis de nanomateriales con

propiedades químicas, biológicas, mecánicas y físicas únicas. Mediante la introducción de la nanotecnología en el sector médico, los científicos son capaces de desarrollar nuevos materiales y estrategias para la detección y prevención precisas de enfermedades malignas, nuevos implantes médicos y prótesis artificiales con buena biocompatibilidad [1,22,3].

Se sabe que los materiales a base de carbono, como los nanotubos de carbono y el grafeno, poseen un módulo y una resistencia mecánica excepcionalmente altas, alta luz transmisor y una excelente conductividad eléctrica [44,5,66,7,88,9]. Estas atractivas propiedades han dado lugar a un interés generalizado en el uso de estos materiales para fabricar dispositivos electrónicos, materiales compuestos, partos de drogas, implantes médicos, etc. [10,11,12,13,14,15,16,17,18]. Por ejemplo, los nanotubos de carbono (CNT) unidimensional (1D) son candidatos prometedores para entregar fármacos en células biológicas debido a su estructura hueca. Los CNTs con una característica similar a una aguja pueden penetrar fácilmente la membrana plasmática, transportando así moléculas terapéuticas de manera efectiva. Sin embargo, los nanotubos penetrantes celulares también pueden ser dañinos para las células biológicas porque inducen toxicidad apreciable y apoptosis [19,20,21]. Las observaciones microscópicas electrónica han revelado la presencia de nanotubos en el citoplasma, induciendo así el estrés oxidativo, reduciendo la actividad metabólica y causando una eventual muerte celular [22,23]. A este respecto, la aplicación de nanotubos de carbono en el campo clínico se ve obstaculizada por su biodistribución, tamaño y forma [19,20,21].

El grafeno es una monocapa bidimensional de átomos de carbono híbrido sp^2 unidos covalentemente en una celosía hexagonal. Es un bloque básico de construcción para materiales de carbono de todas las otras dimensionalidades, incluyendo la bola de 0D Bucky y el punto cuántico de grafeno (GQD), nanotubo de carbono 1D y grafito 3D (Figura 1) [24][24]. El grafeno fue aislado en primer lugar de grafito por Geim y Novoselov a través del escote mecánico usando una cinta de whitch para fijar copos de capas de grafeno [25][25]. La lámina de grafeno exfoliado mecánicamente es pura y libre de defectos, pero su rendimiento es muy pequeño. Su aplicación se limita a la investigación sólo para estudiar las propiedades eléctricas, mecánicas y ópticas del grafeno puro. Por lo tanto, los investigadores han llevado a cabo numerosos estudios para sintetizar grafeno a gran escala, incluyendo sus derivados como el óxido de grafeno (GO), la reducción [14,26,28,28,29,30,32,33,34] del óxido de grafeno (rGO) y óxido de grafeno térmicamente reducido (TRG) [14,26,28,28,29,30,32,33,34]. Las notables propiedades eléctricas, mecánicas y ópticas de las hojas de grafeno, y GQDs las convierten en materiales atractivos para su uso en industrias electrónica, optoelectrónica y aeroespacial [35,36,37].

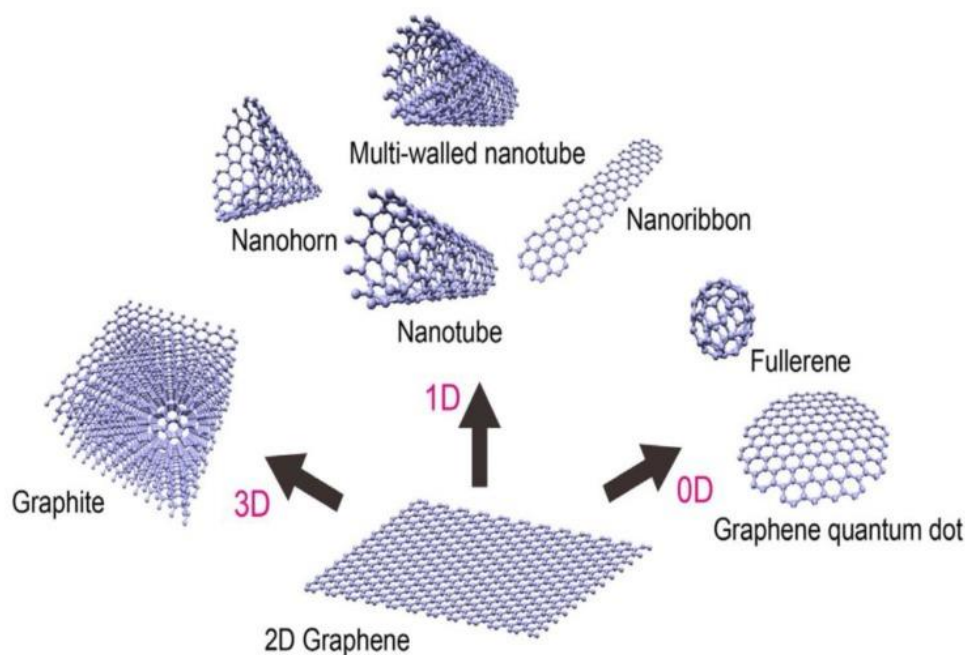
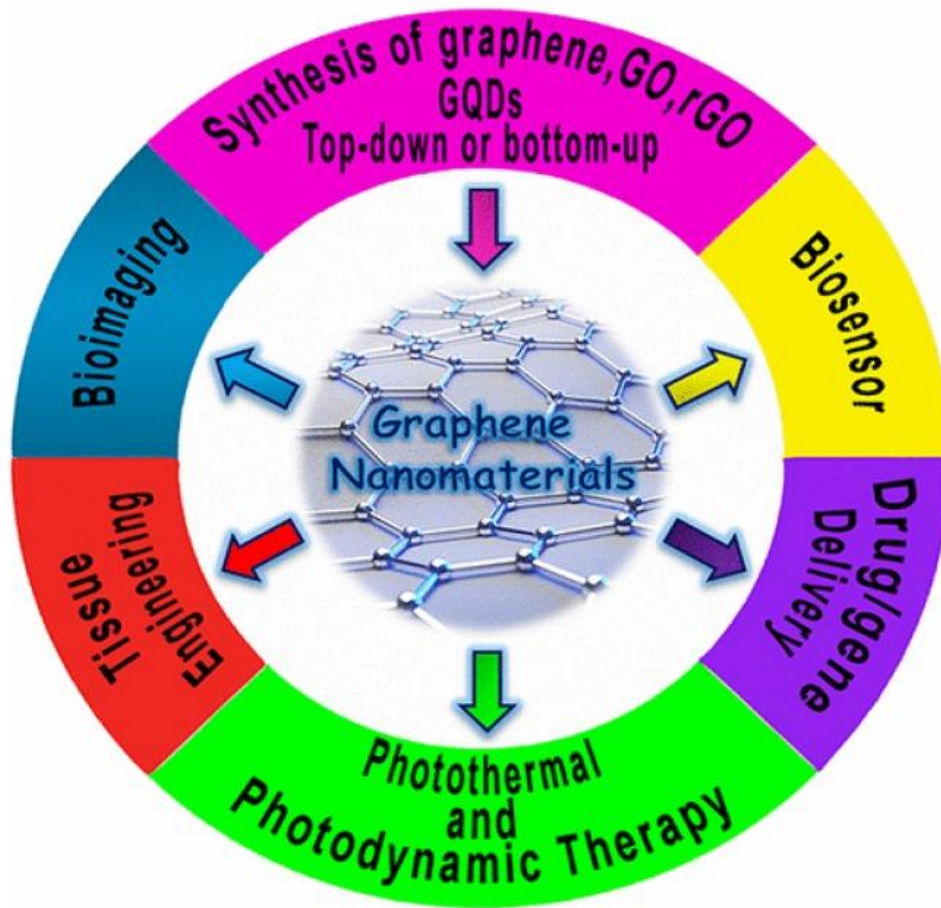


Figura 1

Materiales carbonáceos de diferentes dimensiones. Reproducido de [24](#)[24] con permiso de Taylor & Francis.

El grafeno y sus derivados, así como los GQD, también han surgido rápidamente como materiales prometedores para su uso en el sector biomédico, como biosensores, ingeniería de tejidos, bioimagen, suministro de medicamentos y terapia fototérmal ([Figura 2](#)) [[18,38,39,40,41,42](#)]. Los GQD generalmente muestran fotoluminiscencia debido a un efecto de confinamiento cuántico. Por lo tanto, GQDs encontrar aplicaciones en el campo biomédico para efectos de imágenes y sensores. Por ejemplo, los GQDs derivados de hojas de plantas con atractivas propiedades fotoluminiscentes son particularmente adecuados para el bioimagen, incluyendo pez cebra y líneas de células cancerosas humanas. Los peces cebra pueden crecer saludablemente en presencia de GQDs (2 mg/ml) [[2,42](#)]. La principal preocupación en el uso de materiales basados en grafeno para aplicaciones biomédicas es su biocompatibilidad. A partir de obras establecidas en la literatura, la biocompatibilidad del grafeno y sus derivados son a menudo contradictorios. Los efectos de los nanomateriales de grafeno en la viabilidad celular dependen de diversos factores y condiciones experimentales [[43,44,45](#)]. Por consiguiente, es necesario investigar la biocompatibilidad y la toxicidad del grafeno y sus derivados a través de cultivos de células in vitro y modelos animales in vivo. Chang et al. encontraron que el GO no entra en las células A549 (células epiteliales basales alveolar humanas) y no muestra una citotoxicidad obvia. Sin embargo, el GO tiende a inducir un estrés oxidativo dependiente de la dosis en las células, causando una pequeña reducción de la viabilidad celular a alta concentración. Estos efectos están relacionados con la dosis y el tamaño [[46](#)]. Del mismo modo, Wang et al. informaron que GO muestra toxicidad dosis-dependiente de células y ratones humanos [[47](#)]. Sus resultados revelaron que el GO con dosis menores de 20 g/ml no muestran toxicidad para las células de fibroblastos humanos. A dosis superiores a 50 g/ml, se observa citotoxicidad obvia, como la reducción de la adherencia celular y la apoptosis celular. Para las pruebas de ratones in vivo, la dosis baja (0,1 mg) y la dosis media (0,25 mg) GO no muestra toxicidad evidente, pero una dosis alta (0,4 mg) causa toxicidad crónica, lo que conduce a la muerte de ratones y la formación de granuloma pulmonar. Yang et al. investigado in vivo biodistribución de grafeno funcionalizado con polietilenglicol (PEG) en ratones. Indicaron que el grafeno EGIado no induce toxicidad apreciable bajo una dosis de 20 mg/kg durante tres meses [[48](#)]. Esta revisión resume la síntesis de grafeno y sus derivados, y los efectos de las interacciones entre nanomateriales a base de grafeno con células de mamíferos en condiciones in vitro e in vivo. Las interacciones de los nanomateriales de grafeno con células biológicas son cruciales para la evaluación de la bioseguridad para asegurar su uso seguro en sectores biomédicos.



[Figura 2](#)

Aplicaciones de nanomateriales de grafeno en ingeniería biomédica. Reproducido de [40] con permiso de la Sociedad Química Estadounidense.

[Ir a:](#)

2. Síntesis de los nanomateriales en base a grafeno

El grafeno generalmente se puede sintetizar desde rutas de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba. La ruta de arriba hacia abajo incluye escisión micromecánica de grafito, exfoliación en fase líquida y exfoliación química de grafito para producir GO, seguido de tratamientos químicos o térmicos para obtener rGO o TRG, respectivamente. La ruta de fabricación de abajo hacia arriba incluye la deposición química de vapor y el crecimiento epitaxial en el sustrato de SiC ([Figura 3](#)) [49].

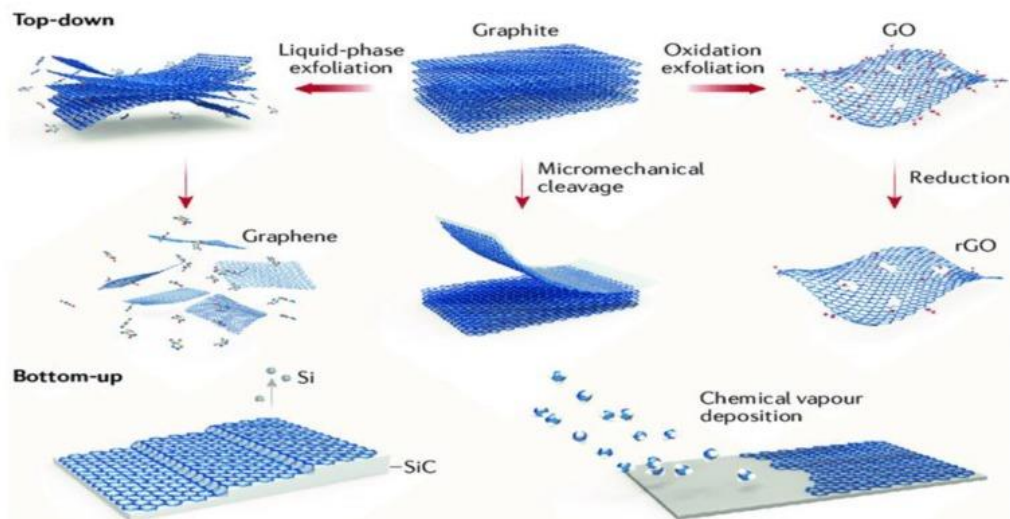


Figura 3

Varios métodos utilizados para la fabricación de grafeno. Reproducido de [49] con permiso de Springer Nature.

2.1. 2.1. Grafeno epitaxial en SiC Wafers

Las películas de grafeno se pueden cultivar en las obleas de SiC a través de la sublimación de la superficie de los átomos de las obleas en el vacío ultra-alto (UHV) a altas temperaturas (normalmente por encima de 1000 °C). Como resultado, el exceso de dominios de carbono se dejan atrás en la superficie de la [5051](#)obúrja y luego se reconstruyen para producir grafeno [50,51]. Sin embargo, el alto costo y el pequeño tamaño de las obleas de SiC y la necesidad del sistema UHV a altas temperaturas impiden la adopción de este proceso para la producción a gran escala de grafeno en las industrias.

2.2. Vapor químico Deposited Graphene Films

La deposición de vapor químico (CVD) se emplea típicamente para fabricar películas de gran superficie, monocapa en grafeno sobre metales de transición (Fe, Ni, Co, P, Ru, etc.) mediante la admisión de gas hidrocarburo, como metano, etano o propano en la cámara de reacción a altas temperaturas [52\[52,53\]](#). Los sustratos Cu o Ni se utilizan comúnmente debido a su bajo costo, y sirven como catalizador para la descomposición de gas de hidrocarburos ([Figura 4](#)) [54\[54\]](#). Las delgadas películas fueron luego transferidas a sustratos diana como SiO₂/Si, vidrio o polímero flexible como poli(tereftalato de etileno) (PET). La deposición y el crecimiento de las películas de grafeno se lleva a cabo en dos pasos. El primer paso consiste en una pirólisis inicial del precursor de la forma de carbono. Esto es seguido por la formación de la estructura grafiada de los átomos de carbono disociados. En general, el crecimiento de la DEC del grafeno en el sustrato con baja solubilidad en carbono se produce a través de un mecanismo de adsorción superficial. En el proceso, el precursor del carbono se descompone y adsorbe sólo en la superficie metálica, seguida de la migración y el crecimiento. Por el contrario, el grafeno sobre Ni se produce a través de la segregación y precipitaciones de carbono [525354\[52,53,54\]](#). Las especies de carbono se descomponen a partir de gas de hidrocarburos y difuso en la superficie de metal de níquel con alta solubilidad de carbono a temperaturas elevadas para crear una solución sólida. Durante el enfriamiento, la solubilidad de carbono disminuye, permitiendo que los átomos de carbono salgan del metal y luego se precipiten en la superficie de Ni para producir grafeno. Varios factores pueden afectar el crecimiento y la calidad de las películas de grafeno, incluyendo los tipos de materiales de sustrato, y parámetros de procesamiento de la ECV como tipo de gas precursor, concentración, caudal y temperatura [55\[55\]](#). Las películas de grafeno que se forman por islas de grafeno orientadas al azar son policristalinas con una alta densidad de límites de granos. Esos defectos del límite de granos degradan las propiedades eléctricas de las películas de grafeno en gran medida, ya que sirven como centros de dispersión para los electrones, resultando en una movilidad reducida como se esperaba. En este sentido, se desea fabricar películas de grafeno con granos grandes con menos límites de granos, o incluso películas de grafeno de un solo cristal. Muy recientemente, Xu et al. fabricado en gran área, grafeno de cristal (5 x 50 cm²) en la lámina de un solo cristal de tamaño de medidor Cu(111) a través del crecimiento epitaxial de las islas de

grafeno en la superficie de cobre [56]. La película de grafeno de tamaño determinado tenía una movilidad de hasta $23.000 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 4 K. Las películas de grafeno de alta calidad de CVD encuentran aplicaciones atractivas en la fabricación de paneles táctiles dobles, pantallas y dispositivos optoelectrónicos.

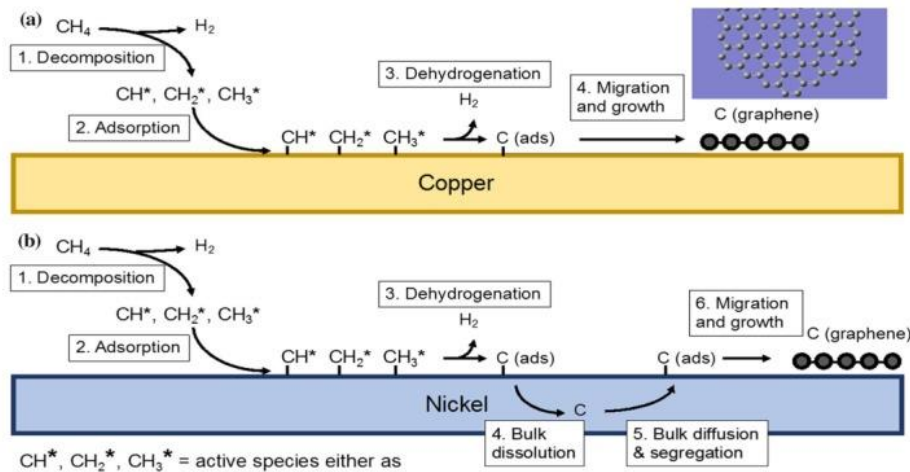


Figura 4

Diagrama esquemático que muestra la deposición de grafeno en (a) los sustratos de níquel de cobre y (b). Reproducido de [54][54] con permiso de la American Chemical Society.

En general, es necesario la transferencia directa de película de grafeno de las láminas de Cu o Ni a un sustrato de destino como SiO_2/Si , vidrio o PET para aplicaciones prácticas. Tal proceso de transferencia de grafeno puede inducir defectos, como arrugas y grietas, que son perjudiciales para sus propiedades eléctricas y ópticas. Para eliminar el proceso de transferencia, se ha explorado la síntesis directa de grafeno en materiales no metaólicas como nitruro de boro hexagonal, sin necesidad de transferirse a otro sustrato. Sin embargo, el crecimiento directo del grafeno es muy lento y el tamaño final de la película de grafeno también es limitado en ausencia de metal de transición Cu o Ni catalizador. En consecuencia, el alto costo de producción y el tedioso proceso de transferencia de películas son los principales obstáculos para la comercialización de CVD-graphene en la actualidad [57]. Dado que la ECV térmica requiere una temperatura alta de 800o1000 oC para el cultivo de películas de grafeno, es de interés práctico reducir las temperaturas o presiones de procesamiento, permitiendo así la fabricación de gran área con menor coste [28][28]. Las presiones reducidas pueden minimizar las reacciones a la fase gaseosa no deseadas y lograr la uniformidad de película en todo el sustrato. Ruoff y compañeros de trabajo demostraron que las películas de un solo grafeno de cristal pueden sintetizarse por la deposición de vapor químico de baja presión (LPCVD) en los recintos de cobre-foil utilizando metano como precursor [58][58]. Esas películas de LPCVD exhibieron una movilidad de portador superior.

2.3. Exfoliación de fase líquida

La exfoliación en fase líquida (LPE) es una ruta escalable para la producción masiva de grafeno debido a su bajo costo y sencillez. En el proceso, el grafito se dispersa en un disolvente para debilitar las fuerzas van der Waals entre los intercapas de grafeno en presencia o ausencia de tensioactivos. La ultrasonificación o el corte se pueden emplear para facilitar la exfoliación de grafito en las hojas de grafeno. A esto le sigue un paso de purificación para producir hojas de grafeno únicas y multicapa [30][30]. Esta estrategia permite la síntesis de hojas de grafeno exfoliadas en forma de suspensión solvente. Dado que los tensioactivos, disolventes orgánicos y ácidos fuertes se utilizan para exfoliar y estabilizar los copos de grafeno en el medio específico, pueden causar problemas de contaminación ambiental. Además, los tensioactivos residuales son difíciles de quitar de las hojas de grafeno. La mayoría de los disolventes orgánicos (por ejemplo, *N,N*-dimetil-formamida (DMF); *N*-metil-2-pirrolidona (NMP); diclorobenceno (DCB)) utilizados son altamente tóxicos; pueden inducir toxicidad celular; y, deben evitarse con fines de manipulación celular.

2.4. Reducción química y térmica de GO

El óxido de grafeno es un derivado del grafeno producido por oxidación química de copos de grafito en agentes oxidantes fuertes. El proceso de Hummers modificado se utiliza ampliamente para producir GO mediante la reacción de copos de grafito con una mezcla de ácido sulfúrico, nitrato de sodio y permanganato potásico bajo agitación o sonicación vigorosa [59]. La suspensión se diluye con agua, el peróxido de hidrógeno se añade para lograr un mayor grado de oxidación, seguido de enjuague con agua. Los inconvenientes de este proceso son los largos tiempos de procesamiento y la generación de gases tóxicos (NO_2 y N_2O_4). Para abordar estos problemas, Tour y compañeros de [60] trabajaron modificaron este método sustituyendo el nitrato de sodio por ácido fosfórico bajo una relación mixta $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$ (9:1) mientras aumentaba la concentración de KMnO_4 [60]. La ventaja de este método es la eliminación de la formación de gases tóxicos. Las desventajas incluyen el consumo de una gran cantidad de KMnO_4 , y tratamiento tedioso, filtración, centrifugación y procedimientos de lavado. Por lo tanto, se han desarrollado varias tácticas para modificar aún más el proceso Hummers, como el empleo de ferrate de potasio (K_2FeO_4) como un fuerte oxidante en lugar de KMnO_4 y la eliminación de NaNO_3 en la preparación GO [61].

GO está generalmente decorado con grupos funcionales de oxígeno, como carboxyl, hidroxilo y epóxido [32,34]. Así, las hojas GO son anfipáticas, con componentes hidrofílicos e hidrofóbicos [62][62]. Se hidratan fácilmente al exponerse al agua debido a la presencia de grupos de carboxil en los bordes. Los grupos funcionales de oxígeno también permiten dispersar a GO en varios disolventes orgánicos como acetona, DCB, NMP y DMF [63][63]. Además de los problemas mencionados, el proceso Hummer sigue adoleciendo de ciertos defectos, incluidas cuestiones medioambientales relacionadas con el uso de fuertes oxidantes, y la introducción de impurezas en los productos GO. Además, una gran cantidad de ácidos de desecho y agentes oxidantes puede conducir a la contaminación ambiental en la producción a gran escala de GOs en las industrias. En términos de problemas de salud, una cantidad traza de Mn en los Oxis derivados del permanganato potásico puede deteriorar sus propiedades físicas e inducir toxicidad en las células de los mamíferos [64][64]. A este respecto, la síntesis verde de los GO ha atraído una atención considerable en los últimos años, especialmente en el ámbito biomédico [65][65]. GO es un aislante eléctrico, y su conductividad se puede recuperar parcialmente mediante la reducción química en los agentes reductores, como la hidracina y el borohidrato sódico, para producir rGO [66][66]. Hasta ahora, la hidrazina sigue siendo el agente más utilizado debido a su fuerte actividad de reducción para eliminar grupos oxigenados. Sin embargo, la reducción química de GO a rGO no puede eliminar completamente los grupos oxigenados. En consecuencia, rGO todavía contiene una cierta cantidad de grupos de oxígeno residual. Alternativamente, el calentamiento rápido de GO a 1050 oC bajo el vacío o atmósfera inerte para generar TRG, de tal manera que los grupos funcionales oxigenados se eliminan como dióxido de carbono [67].

2.5. Graphene-Polymer Nanocomposites

El grafeno puro muestra un módulo elástico excepcionalmente alto de aproximadamente 1 TPa y resistencia intrínseca de 130 GPa [8], una transparencia óptica superior del 97,7% [9], y una excelente conductividad eléctrica y movilidad de $2 \times 10^5 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$. A este respecto, el grafeno es un material de relleno atractivo para los polímeros para formar nanocompuestos de polímero funcional [69][69]. El rendimiento de los polímeros con alta flexibilidad puede adaptarse a aplicaciones específicas añadiendo rellenos de tamaños micro o nanoescala [70][70]. Los compuestos de polímeros heredan propiedades ventajosas de sus componentes, y, lo que es más, los polímeros proporcionan una matriz protectora para rellenos embelleceres del daño mecánico. Las microcomunidades convencionales de polímeros se utilizan comúnmente como componentes estructurales en sectores biomédicos e industriales debido a su peso ligero, facilidad de fabricación y bajo costo [71,72,73,74,75,76]. Sin embargo, se necesita un contenido de relleno de gran volumen (30%) para lograr los comportamientos biológicos, mecánicos y físicos deseados. El gran contenido de volumen de relleno tiene efectos adversos en las propiedades de las microcomositas poliméricas. A este respecto, los nanomateriales a base de grafeno en cargas de relleno bajo pueden utilizarse para rellenar y reforzar los polímeros.

Como ya se ha mencionado, el grafeno de CVD prístino se desarrolla principalmente para dispositivos optoelectrónicos, pantallas tácticas y fotovoltaica solar. Los copos de LPE-graphene contienen disolventes y tensioactivos residuales que tienen efectos adversos para la salud. En este sentido, los GOs con grupos oxigenados son considerados rellenos ideales para reforzar los polímeros. Esos grupos

funcionales hacen GO hidrofílica, por lo tanto, pueden reaccionar con polímero soluble en agua, como alcohol polivinílico [77]. De la literatura, el módulo elástico de GO monocapa es 207.6 23,4 GPa [78], siendo una cuarta parte del módulo de grafeno puro. Sin embargo, el módulo de GO sigue siendo mucho mayor que el de los biopolímeros, como el ácido poliláctico (PLA) con un módulo de aproximadamente 2,703 GPa y policaprolactona (PCL) de 0,4 GPa. Por lo tanto, GO se puede utilizar para reforzar las nanocomposiciones GO/PLA y GO/PCL con un mejor rendimiento mecánico, estabilidad térmica y biocompatibilidad. Estos biocompositos de polímero se pueden preparar por varias rutas, incluyendo mezcla de soluciones, mezcla de fundidos y electrospinning [79,80,81].

[Ir a:](#)

3. Viabilidad y Toxicidad celular

Los nanomateriales a base de grafeno pueden ser biocompatibles o tóxicos para las células biológicas. La respuesta de las células vivas a estos nanomateriales depende en gran medida de su número de capa, tamaño lateral, pureza, dosis, química superficial e hidrofiliidad. Las sustancias superficiales de los nanomateriales de grafeno varían mucho debido a las diferentes estrategias adoptadas para su síntesis, y la disponibilidad de diferentes moléculas o polímeros para la funcionalización de la superficie. En general, varias líneas celulares importantes se emplean para la evaluación in vitro de la toxicidad de los nanomateriales, incluyendo los fagocitos (por ejemplo, macrófagos) y células no alveolares (por ejemplo, células endoteliales y epiteliales, células cancerosas, eritrocitos, etc.). La comprensión adecuada de cómo los nanomateriales de grafeno interactúan con esas células es de crucial importancia en su uso para aplicaciones médicas.

Las interacciones de los nanomateriales de grafeno con las membranas celulares también pueden conducir al daño de la membrana y la citotoxicidad. Los fosfolípidos de las membranas celulares consisten en un grupo de cabezas de fosfato y dos cadenas de ácidos grasos. Los grupos principales de cabeza incluyen colina, serina, glicerol, etanolamina, inositol y ácido fosfático. Los diversos grupos de cabezas en fosfolípidos les confieren propiedades distintivas. Además, las membranas celulares también contienen moléculas de colesterol que juegan papeles importantes en la estabilización de la estructura de membrana, el mantenimiento de la fluidez y la modulación de las actividades de las proteínas asociadas a la membrana. El grafeno puro sin cargas en el plano basal no puede interactuar electrostáticamente con los fosfolípidos, sino favoreciendo las interacciones hidrofóbicas con las colas de lípidos. Además, las interacciones hidrofóbicas entre grafeno puro y cola de colesterol pueden extraer o eliminar moléculas de colesterol de la membrana, lo que conduce al daño de la membrana. Por ejemplo, Bernabò et al. indicaron que el GO puede interactuar con la membrana celular de espermatozócito porcino, resultando en la extracción de colesterol de la membrana [82]. A partir de la simulación teórica de los sistemas de biomembrana, la extracción de moléculas de colesterol induce la formación de vacíos y la deformación de la membrana debido a las fuertes fuerzas que se arrastran desde la lámina de grafeno, causando una pérdida de integridad de membrana [83]. Más recientemente, Duan et al. informaron que el GO puede extraer fosfolípidos de las membranas celulares del alveolar humano A549 y el macrófago del ratón Raw264.7, produciendo poros superficiales, como lo demuestran los microgramas SEM [84]. Este efecto redujo la viabilidad celular, lo que llevó a la muerte final de la celda. Lo atribuyeron a las fuertes interacciones entre dominios hidrofóbicos de los GOs y los carbonos de cola de lípidos sobre la base de simulaciones de dinámica molecular (MD).

La carga de superficie y la química superficial de GO ejercen efectos significativos sobre las interacciones celulares. GO tiene una alta densidad de carga negativa conferida por grupos funcionales oxigenados, por lo que pueden ocurrir posibles interacciones electrostáticas entre GO y lípidos de la membrana. En este contexto, Li et al. prepararon cinco lípidos con la misma cadena de alquiles de 18 carbonos, pero diferentes cargas del grupo de cabeza, y estudió las interacciones GO-lípido usando la técnica monocapa de Langmuir [85]. Descubrieron que GO puede interactuar con grupos de cabeza lipídicas cargadas positivamente a través de interacciones electrostáticas, pero no con lípidos cargados neutral o negativamente. Como se sabe, las cargas eléctricas de fosfolípidos de las membranas celulares de mamíferos son negativas o neutras. Es poco probable que los lípidos cargados negativamente atraigan a GO de los mismos cargos. Hu et al. indicaron que el GO cargado negativamente se sometía a una repulsión electrostática con lípidos de las mismas cargas, mientras que las interacciones hidrofóbicas entre GO y lípidos cargados negativamente facilitan la adsorción de GO en los lípidos [86]. Estos hallazgos indican que los GOs pueden inducir directamente los daños de la membrana celular a través de

interacciones hidrofóbicas sin penetrar las células. Muy recientemente, Xia y sus compañeros de trabajo investigaron el efecto de la química de la superficie GO en las interacciones de la membrana lipídica usando GO prístino, GO (hGO) y rGO [87]. Ellos informaron que hGO puede inducir la peroxidación lipídica de la membrana superficial, lo que conduce a la lisis de la membrana y la destrucción de la integridad celular. hGO fue sintetizado reaccionando GO con solución de hidróxido de sodio a 50 o 100 oC. Durante el proceso de hidratación, los anillos epoxi de GO reaccionaron con nucleófilos en la solución, creando grupos C-OH y radicales de carbono (*C), según lo detectado por la técnica de resonancia paramagnética electrónica. Estos radicales fueron reactivos debido a la presencia de electrones no emparejados que reaccionaron fácilmente con oxígeno para producir radicales de superóxido, con capacidad de lípidos insaturados oxidantes y grupos de tiol en proteínas para formar lipoperóxidos. Esto llevó a un fracaso en la integridad de la membrana y la muerte celular en las células humanas de monocitos THP-1 y epitelio bronquial humano BEAS-2B. El grupo epoxi de GO puro también podría crear radicales de carbono, pero en menor medida que hGO. Como tal, la citotoxicidad inducida por los materiales basados en el GO en ambos tipos de células está en el orden hGO

Aparte de las interacciones lipídicas-nanomateriales, los nanomateriales a base de grafeno también pueden entrar en citoplasma debido a su pequeño tamaño y bordes afilados. Pueden penetrar la membrana celular fácilmente que conduce al daño de la membrana y la fuga de contenidos citoplasmáticos. Al residir en células vivas, pueden inducir toxicidad a través de la creación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que pueden causar trastorno mitocondrial al reducir el potencial de membrana mitocondrial (MMP) y daño de la membrana celular a través de la liberación de lactato deshidrogenasa (LDH). En este último caso, ROS puede inducir la peroxidación lipídica reaccionando con ácidos grasos insaturados de los lípidos de membrana para producir peróxidos de lípidos, como malondialdehído (MDA). A partir de estos resultados, el GO puede inducir la generación extracelular e intracelular de ROS, incluso a dosis bajas, bajo una forma dependiente de la dosis y el tiempo. Por lo tanto, la producción de ROS, la disfunción mitocondrial y la fuga de LDH son los factores clave relacionados con la muerte celular como en el caso de los queratinocitos de piel HaCaT humanos [88]. Si los nanomateriales pueden entrar en el núcleo, podrían interactuar directamente con el ADN y causar genotoxicidad. Además, las condiciones in vitro e in vivo, como la dosis de grafeno, el tiempo de exposición, el tipo de célula o animal, y la técnica utilizada para evaluar la viabilidad celular pueden influir en la biocompatibilidad y el efecto tóxico de los nanomateriales de grafeno. Por lo tanto, es necesaria una comprensión adecuada de las interacciones de los nanomateriales basados en grafeno con los sistemas biológicos y sus efectos adversos para el desarrollo ulterior y el uso seguro de estos nanomateriales.

3.1. En Cultivación de Celulares Vitro

3.1.1. CVD-Grown Graphene

El uso de grafeno prístino nos proporciona una mejor comprensión de la respuesta directa y la interacción entre el grafeno nanoestructurado y las células biológicas. A partir de la literatura, se han reportado resultados [92](#) contradictorios relacionados con los efectos de las películas de grafeno en la biocompatibilidad y citotoxicidad de los sistemas celulares [\[89,90,91,92,93,94,95\]](#). Zhang et al. describió la cultura en CVD expuestas con dosis de 0,01, 0,1, 1, 10 y 100 g/ml a células neuronales de PC12 para 1, 4 y 24 h [\[89\]](#). Con una dosis más baja de 0,01 g/ml, el grafeno no tuvo ningún efecto sobre la actividad metabólica, la liberación de LDH y ROS. A una dosis alta de 10 g/ml, los efectos citotóxicos inducidos por el grafeno disminuyendo la actividad mitocondrial a partir de los resultados del ensayo de bromuro de 2,5%-difeniltetrazol (MTT), mientras aumentan los niveles de ROS, caspase-3 y LDH. De la prueba de la caspasa 3 (marcador de apoptosis), la apoptosis se produjo a dosis de grafeno de 10 g/ml. Así, los efectos citotóxicos inducidos por el grafeno dependían de la dosis y el tiempo. Generalmente se sabe que ROS puede oxidarse las moléculas de lípidos celulares, proteínas y ADN, influyendo así en la señalización y el metabolismo celular. El aumento de la producción de ROS puede causar despolarización de membrana mitocondrial y promover la activación de la caspasa. La despolarización de la membrana mitocondrial es el resultado de una pérdida en la integridad de la membrana mitocondrial, resultando en una disminución de MMP. Esto a su vez retarda la síntesis ATP de la mitocondria, que es la casa de poder de la célula. Las caspasas son proteasas intercelulares que son responsables del escote proteolítico. Caspase-3 es la principal caspasa que está involucrada en la ejecución de apoptosis.

Por el contrario, Nayak et al. encontraron que las películas de grafeno cultivada en CVD no obstaculizan la proliferación de células madre mesenquimales humanas (hMSC), sino que aceleran su diferenciación específica en células óseas [90]. Investigaron el efecto del grafeno en la proliferación de hMSCs empleando cuatro materiales de sustrato con diferente rigidez y rugosidad superficial, incluyendo polidimetilsiloxana (PDMS), PET, diapositivas de vidrio y SiO₂/Si. Todos los muestras de sustrato recubiertos de grafeno muestran un gran aumento en los depósitos de calcio debido a la formación ósea. Además, los resultados de ensayos de MTT y las imágenes de inmunofluorescencia revelan buena viabilidad celular y morfología. Kim et al. también demostraron que las películas de grafeno cultivada en CVD exhiben apego de células estables y excelente biocompatibilidad con células cardíacas adultas primarias (cardiomios) [91]. Las películas de grafeno con conductividad eléctrica superior son especialmente adecuadas para la adhesión de células neurales, ya que las funciones de las células neuronales se asocian con actividades eléctricas. A este respecto, Park et al. reportaron una mejora de la diferenciación de las células madre neuronales humanas en las neuronas en el sustrato de vidrio recubierto de grafeno [92].

La migración celular y la adhesión están coordinadas por grandes complejos de proteínas generalmente conocidos como las adhesiones focales (FA). Las FA contienen altos niveles de vinculina, talína, paxillin, "actinina", adherencia focal cinsa, etc. La vinculina de la proteína controla en particular la adhesión celular [93]. Vila filamentos de actina a la matriz extracelular (ECM), a través de talína y transmembrana proteína integrina. Las integridades juegan un papel clave en la convergencia de las señales desde la membrana celular hasta el interior de la célula. Se considera que la topografía a nanoescala de los sustratos artificiales puede regular las FA y su adhesión, proliferación y diferenciación celulares asociadas [94]. Muy recientemente, Lasocka et al. estudiaron la adhesión y proliferación de fibroblastos de ratón L929 en la película de grafeno cultivada en CVD [95]. Indicaron que la película de grafeno no exhibe citotoxicidad a los fibroblastos de L929. Además, la película de grafeno nanoestructurado aumenta la adhesión celular al cultivo de 24 h (Figura 5). A partir de imágenes inmunofluorescentes, fibras de humor vinculina y actina se pueden observar en fibroblastos que crecen tanto en película de grafeno como en sustrato de vidrio. Las células de la película de grafeno exhiben una expresión más fuerte de vinculina en términos de número de adherencias focales. En particular, las fibras de estrés actina son más evidentes y evidentes en los fibroblastos que crecen en el grafeno. Las fibras de estrés se componen generalmente de paquetes de filamentos de F-actina (proteína decisecho), que se cruzan juntos por la actina. Parece que el grafeno nanoestructurado promueve la expresión de las FA regulando la expresión vinculina, mejorando así la adhesión celular. Lasocka et al. también empleó el ensayo CCK-8 colorimetric para evaluar la célula y proliferación viables, y encontró que la actividad mitocondrial de L929 era aproximadamente 12% mayor que la de un espécimen de vidrio de control (Figura 6). El CCK-8 contiene una sal de tetrazolio, WST-8, que comprende [2-(2 metoxi-4-nitrofenilo)-3-(4-nitrofenilo)-5-(2,4-disulfonil)-2H-tetrazol, sal monosódica], que se reduce al agua soluble formazana por deshidrogenasas celulares. La cantidad de formazanacida producida es directamente proporcional al número de células vivas. La sensibilidad a la detección de CCK-8 es mayor que las otras sales de tetrazolio, como MTT y WST-1.

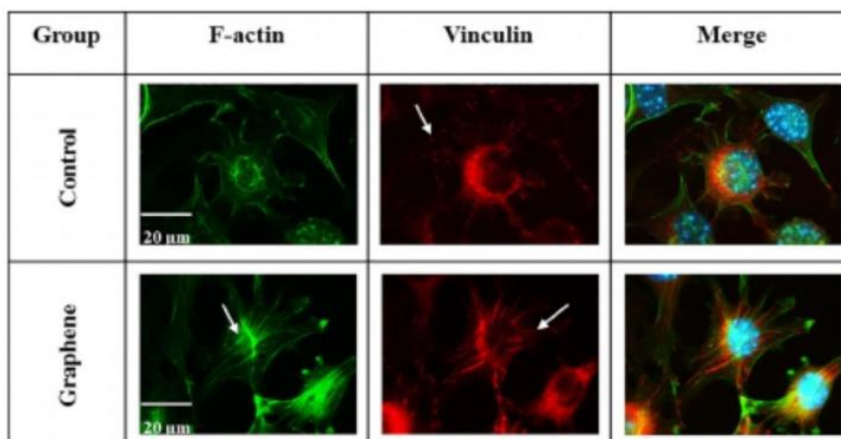


Figura 5

Inmunofluorescencia de células L929 cultivadas durante 24 h en el vidrio (control) y grafeno prístino monocapa: phalloidina-FITC para la actina citosqueleto (verde), anticuerpo antivinculina para vinculina (rojo) y mancha Hoechst 33342 para ADN (azul). Las flechas blancas indican fibras de estrés de actina (panel de izquierda) y protein-vinculina focal de adherencia (panel medio). Reproducido de [95] con permiso de Elsevier.

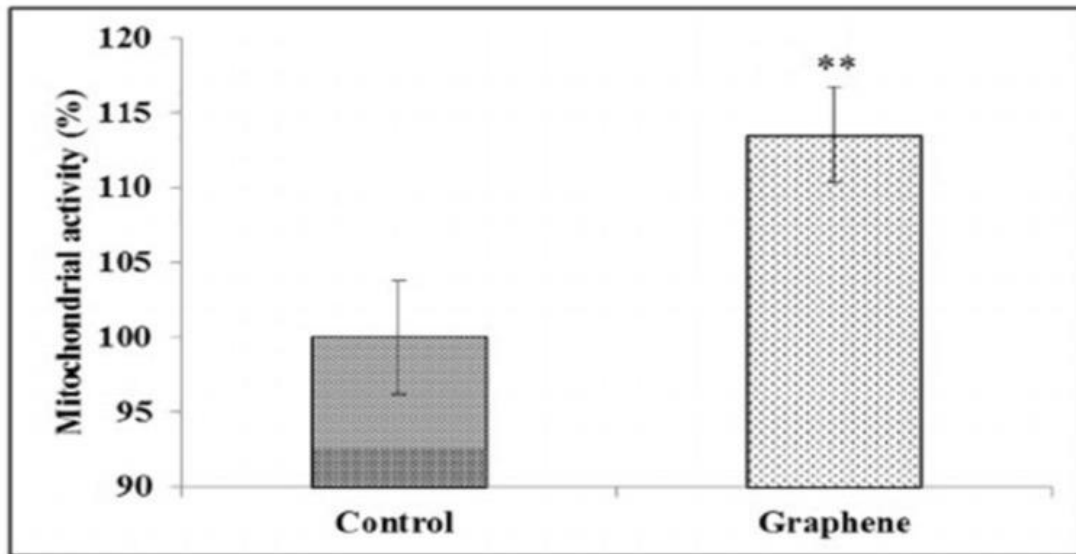


Figura 6

Actividad mitocondrial (ensayo CCK-8) de fibroblastos L929 cultivados en el vidrio y sustratos de grafeno. Los datos se representan como media de la DE (desviación estándar) de tres experimentos independientes. ** $p < 0,01$. Reproducido de [95] con permiso de Elsevier.

Más recientemente, Rastogi et al. estudiaron el efecto de las películas de grafeno cultivadas en LPCVD sobre la viabilidad y el estrés celular tanto de las células no neuronales (monobrota renal; Cos-7) como de neuronas neuronales (neurona hipocámpal de ratas) [96]. Informaron que el grafeno mejora la adherencia celular y el crecimiento de ambas líneas celulares. Además, el grafeno no muestra ningún efecto perjudicial sobre el MMP y la morfología de ambos tipos celulares, demostrando que el grafeno prístino no induce estrés celular. En su estudio se adoptaron el ensayo de ensayo muerto en vivo y estero etílico de tetrametilrhodamina (TMRE). TMRE es un marcador de fluorescencia cuantitativa para la actividad mitocondrial. El ensayo muerto en vivo es una prueba de viabilidad celular fluorescente para evaluar células vivas y muertas en base a la detección de la integridad de la membrana y las consecuencias citotóxicas. Las membranas de células viables están intactas y apretadas, pero las membranas celulares muertas se interrumpen o dañan. La prueba emplea calceína acetoximetilo (Calcein-AM) y tintes homodimer ethidium para la tinción de células vivas y muertas, respectivamente. Calcein-AM mancha células vivas verdes, mientras que EthD-III mancha las células muertas en rojo. Calcein-AM es un compuesto no fluorescente y se convierte en una calceína fluorescente verde debido a la reacción de hidrólisis por esterasas intracelulares en células vivas. La Figura 7 muestra los resultados de ensayos muertos en vivo para células Cos-7 cultivadas en grafeno prístino y vidrio (control) para diferentes períodos. Aparentemente, las películas de grafeno no muestran efectos citotóxicos detectables sobre la viabilidad celular. Las películas promueven la adhesión y el crecimiento celular, especialmente a 96 h (Figura 7 C (II)).

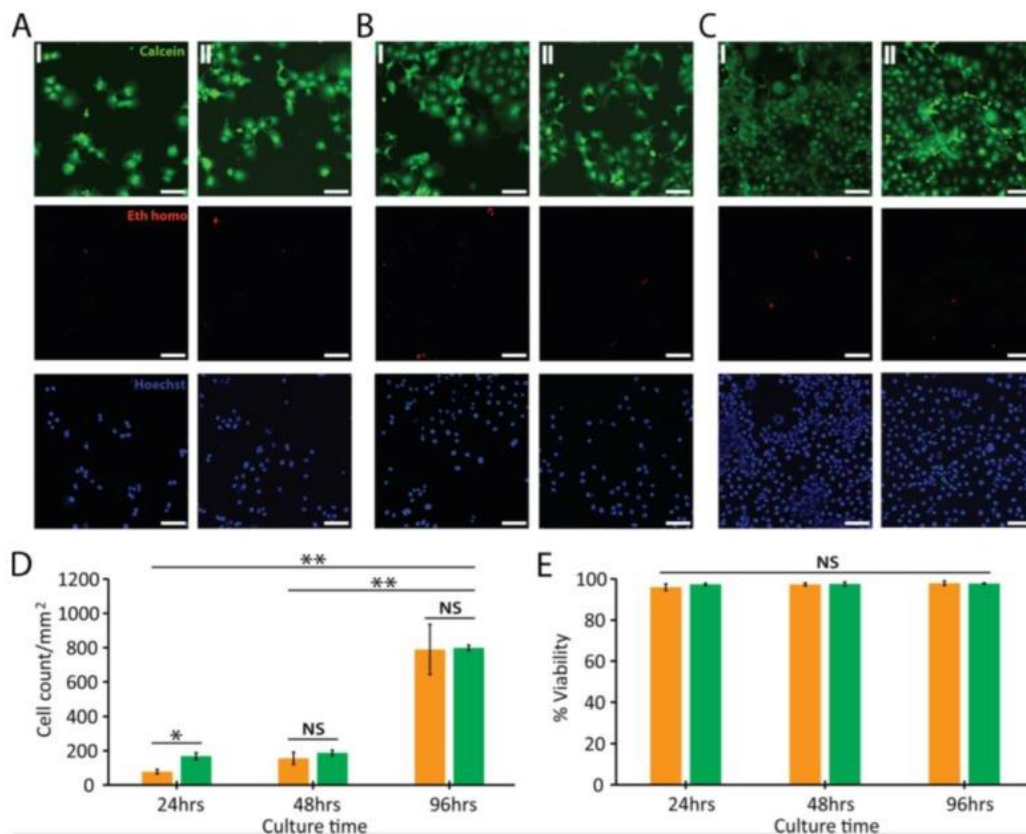


Figura 7

Ensayo de muerte en vivo para células Cos-7 cultivadas en vidrio (I) y (II) grafeno para (A) 24 h, (B) 48 h y (C) 96 h. Verde, rojo y azul denotan células vivas, células muertas y núcleos celulares, respectivamente. Barras de escala: 100 metros. (D) número de celda y (E) % de la viabilidad de las células de Cos-7 cultivadas en el vidrio (naranja) y grafeno (verde) para 24, 48 y 96 h, respectivamente. * y ** denotan $p = 0,05$ y $p .05$, respectivamente. NS no implica diferencia estadísticamente significativa. Reproducido de [96] con permiso de la Sociedad Química Estadounidense.

En los últimos años, el titanio y sus aleaciones se han utilizado cada vez más para fabricar implantes dentales. Las aleaciones a base de ti generalmente muestran una resistencia a la corrosión mucho más alta que las aleaciones incendiadas [97,98]. Sin embargo, los metales a base de Ti sufren de pérdida de desgaste alto durante su servicio de por vida dentro de la cavidad oral. Se sabe que la modificación superficial de los implantes dentales con recubridores duros es muy eficaz para combatir el problema del desgaste y la acumulación bacteriana de placa dental en los implantes. En este sentido, la película de grafeno inerte con alta dureza es un material atractivo para recubrir implantes dentales. Por lo tanto, la película de sensatez se puede transferir en el sustrato de metal Ti para mejorar su resistencia al desgaste y su propiedad bactericida. Zhou y sus compañeros de trabajo investigaron la adherencia, proliferación y diferenciación osteogénica de células madre derivadas de la adiposa humana (hASCs) y células madre mesenquimales humanas (hMSC) in vitro e in vivo cuando se exponen a discos Ti de gráficos CVD [99,100]. Para la prueba in vivo, se implantaron discos CVD-graphene/Ti en el área subcutánea posterior de los ratones desnudos. Sus resultados indicaron que el grafeno prístino promueve la diferenciación osteogénica de los hASCs y los hMSCs in vitro e in vivo.

3.1.2. El óxido de grafeno y sus derivados

Oxido de grafeno

Se han realizado amplios estudios sobre la biocompatibilidad/citotemia de los Ojos debido a su facilidad de fabricación y costo relativamente bajo. El GO puede mejorar la viabilidad celular y causar la muerte celular dependiendo del tamaño, la dosis, el tiempo, el tipo de célula y la química de la superficie. Debido a los diferentes estados de oxidación superficial y características entre GO, rGO y TRG, tales materiales

de grafeno tienen distintas propiedades químicas y físicas. GO posee muchos defectos, como vacantes debido a síntesis, como lo revelan imágenes TEM de alta resolución y espectros Raman [3132][31,32]. TRG producido a partir de un rápido calentamiento de GO a altas temperaturas exhibe una característica arrugada [67]. El proceso de Hummers modificado es comúnmente utilizado por los investigadores para grafito oxidante. Sin embargo, se han empleado varios tiempos y temperaturas de oxidación, diferentes tipos y concentraciones de oxidantes para sintetizar GOs [59,60,61]. Por lo tanto, los GO resultantes contienen diferentes contenidos O u relaciones O/C. Las relaciones O/C en los GO afectan sus propiedades estructurales en gran medida, como se manifiesta en el grado de exfoliación, número de capa de grafeno, espesor y tamaño de capa lateral, fracción defectuosa, concentración de grupo funcional, etc. Como resultado, los OSM con diferentes niveles de oxidación e impurezas interactuarían de manera diferente al exponerse a la misma línea celular. La diversidad estructural de los GO conduce a resultados contradictorios en la literatura relacionada con la biocompatibilidad y la toxicidad. Por lo tanto, parece necesario estandarizar el proceso de síntesis en el uso de GOs para aplicaciones biomédicas.

La síntesis de GO generalmente implica el uso de varios oxidantes fuertes que pueden introducir impurezas o contaminantes residuales en los productos finales. Wong et al. determinaron los tipos de impureza y los contenidos tanto en GO como en rGO. Denunciaron que los pasos químicos de oxidación y reducción durante la fabricación pueden introducir varios elementos metálicos en GO y rGO [101][101]. Las principales impurezas fueron manganeso (alrededor de 2.290 ppm), potasio (820 ppm), sodio (96 ppm) y Fe (82 ppm). Estas impurezas provenían de reactivos de ácido sulfúrico, nitrato de sodio y permanganato de potasio. Otras impurezas metálicas detectables fueron Ca, Co, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn. Además, la hidrazina y el borohidruro sódico (NaBH_4), los agentes reductores llevaron a mayores concentraciones de Fe y Na en rGO. Los niveles de Fe y Na aumentaron de 82 a 123 y 7600 ppm, respectivamente, al reducir con NaBH_4 . Las impurezas residuales de Mn y Fe en los GO afectaron notablemente sus propiedades físicas [101].

Los metales pesados, como Mn, Fe y Cr, son particularmente dañinos o tóxicos para las células de los mamíferos. El manganeso puede inducir toxicidad en las células pulmonares y nerviosas [102][102,103], y causar trastornos mitocondriales al disminuir la MMP e inhibir la activación de la Ca^{2+} mediante el control de la tasa de síntesis de ATP durante la fosforilación oxidativa. Como tal, la presencia de Mn en el núcleo de células PC12 puede conducir a condensación de cromatina, fragmentación del ADN y aumento de niveles de ácarsa-3 [93]. Mn también puede cruzar la barrera hematóbrana y entrar en el cerebro. Al exponerse al cuerpo humano, los efectos tóxicos del manganeso se encuentran principalmente en las vías respiratorias y los tejidos cerebrales, incluyendo embolia pulmonar, bronquitis y daño nervioso [103][103]. Se ha informado que los nanotubos de carbono de una sola pared con trazas de Co, Cr, Fe, Ca y Si son más tóxicos que el GO libre de impurezas (sintetizado de la ruta electroquímica) expuesto en las mismas líneas celulares [104]. Cabe destacar que los agentes químicos, como la hidrazina anhidra, el monohidrato de hidrazina y el borohidrato sódico que se emplean típicamente para reducir el GO son altamente tóxicos para los seres humanos. Estos productos químicos deben evitarse para preparar el rGO utilizado para la manipulación de células. En cambio, los productos naturales respetuosos del medio ambiente, como la glucosa, el polifenol del té y el ácido ascórbico, pueden utilizarse como agentes reductores [65][65]. En los últimos años, se han hecho esfuerzos para sintetizar rGO mediante el uso de extractos respetuosos con el medio ambiente derivados de las plantas naturales, como el hongo, la hoja de palma y el aloe vera [105,106]. Por ejemplo, Dasgupta et al. redujeron con éxito el GO en solución acuosa con la extracción de polisacáridos de un hongo comestible *105* silvestre [105]. Informaron que rGO era biológicamente seguro a concentraciones inferiores a 100 g/ml.

Chang et al. estudiaron el efecto del tamaño y la dosis sobre la biocompatibilidad de GO expuestos a células A549 [46]. En su trabajo se utilizaron GOs de 2 a 780 y 410 nm (*l*-GO), 430 y 300 nm (*m*-GO) y 160 o 90 nm (*s*-GO). El GO mostró buena biocompatibilidad con células A549 y no mostró signos de citotoxicidad (Figura 8). El ensayo CCK-8 mostró que el efecto de *l*-GO y *mm*-GO en la viabilidad de las células A549 era pequeño. Las células mantuvieron un alto nivel de viabilidad (más del 80%), incluso a una alta concentración de GO de 200 g/ml. Sin embargo, se observó pérdida de viabilidad para *s*-GO a 200 g/ml. A esta dosis, la viabilidad celular fue del 67% para la incubación de 24 h. Además, se utilizó el ensayo de exclusión azul de Trypan, en el que las células muertas se tiñen en azul y la célula viva permanece inalterada para evaluar la mortalidad celular. Las células vivas generalmente exhiben membranas celulares intactas; el azul tripnas no puede pasar a través de sus membranas y entrar en el citoplasma. Por el contrario, el tinte penetra en la membrana celular porosa y entra en el citoplasma de las células muertas. Aunque *s*-GO indujo la pérdida de viabilidad a 200 g/ml, no se encuentra un aumento de la mortalidad de las células A5. La mortalidad se mantiene en el 1,5%, siendo similar a la del control

(1,4%) (Figura 9). Usando TEM, no se encuentra también la absorción celular de GO por las células A549. Del mismo modo, Bengtson et al. también informaron que el GO y el rGO de diferentes tamaños no inducen toxicidad en la línea celular epitelial pulmonar murina [44].

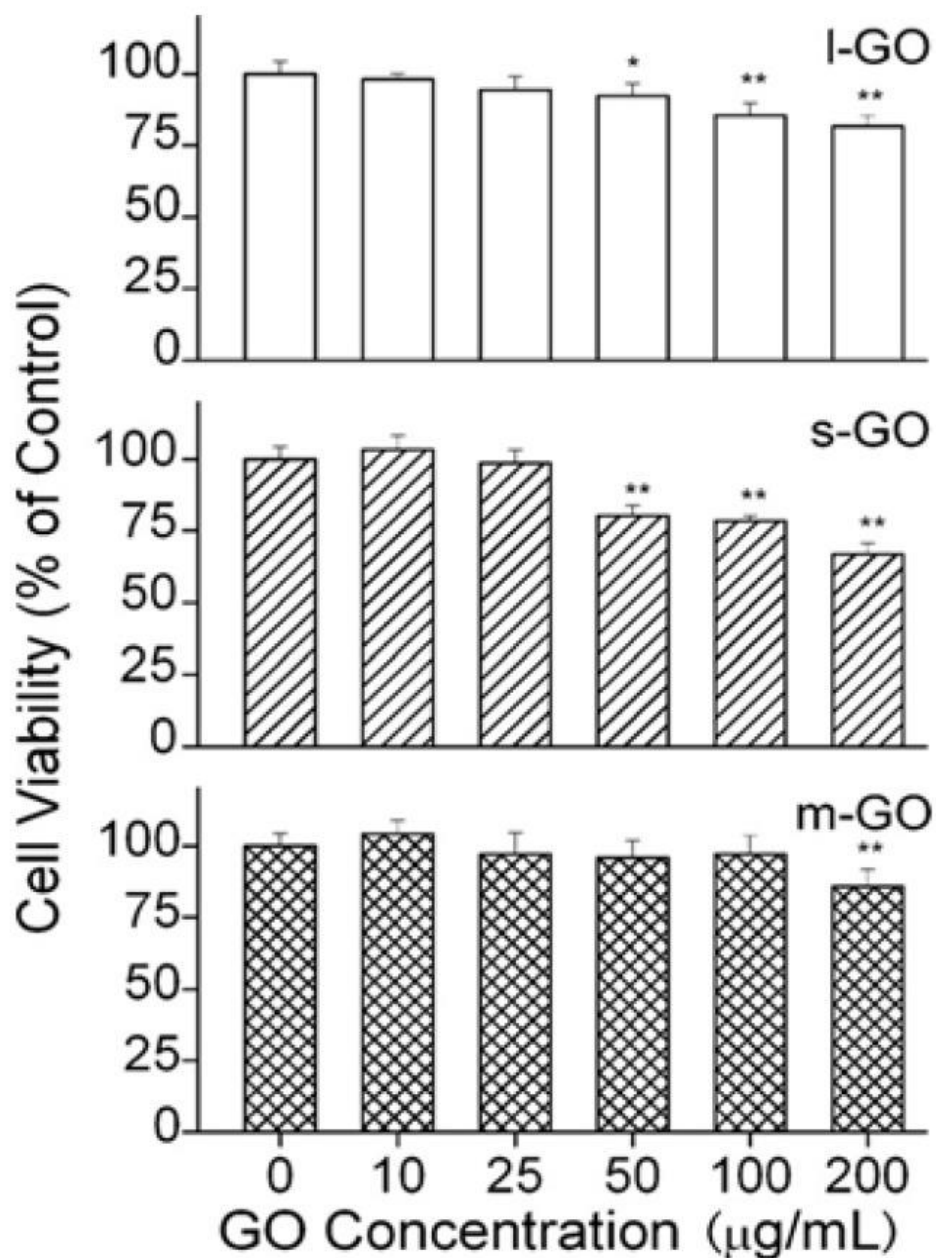


Figura 8

Los efectos de las dosis y tamaños de óxido de grafeno (GO) sobre la viabilidad de las células A5. Reproducido de [46] con permiso de Elsevier. * y ** denote $p = 0,05$ y $p = 0,01$ vs. el control, respectivamente.

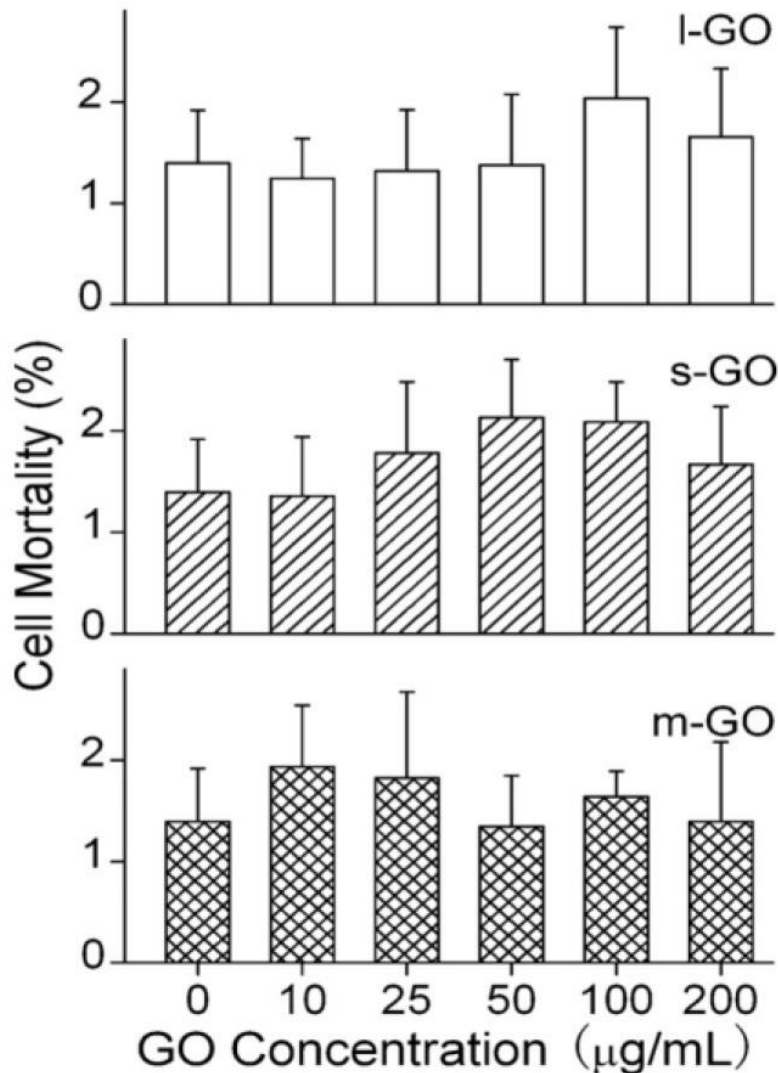


Figura 9

Los efectos de las dosis y tamaños de GO sobre la mortalidad de las células A5. Reproducido de [46] con permiso de Elsevier.

A partir de la literatura, los GOs exhiben toxicidad dependiente de la dosis y el tamaño hacia diferentes líneas celulares, por ejemplo, fibroblastos humanos, carcinoma hepatocelular humano, queratinocitos de la piel humana, etc. [43,47,87,88]. Wang et al. demostraron que los GO con dosis de 20 g/ml no tienen ningún efecto tóxico, pero las dosis de 50 g/mL causan citotoxicidad al inducir la apoptosis celular. Atribuyeron la citotoxicidad a la penetración de los GO en lisosomas, mitocondrion, endoplasmia y núcleo celular [47]. Lammel et al. estudiaron el efecto de la exposición a la OGS de células hepatocelulares humanas (HepG2), con dosis de 1, 2, 4, 8 y 16 g/ml [43]. La citotoxicidad dependiente de la dosis y el tiempo se encontró en las células HepG2, incluso con baja concentración de 4 g/ml. La toxicidad inducida por el GO despertó de la pérdida de integridad estructural de la membrana plasmática y una disminución de MMP, debido a una fuerte interacción física de GO con bicapa fosfolípida. A continuación, GO penetró a través de la membrana plasmática en el citosol, generando ROS y causando un número aumentado de células apoptóticas. Muy recientemente, Bernabo et al. evaluaron la viabilidad de los espermatozoros porcinos exponiéndolos a 0,5x50 g/ml GOs para 1 a 4 h [82]. La muerte celular se produjo en dosis de GO de 10 g/ml después de la exposición de 1 h. A dosis más bajas de GO, el colesterol se extrajo de la membrana de células espermáticas, lo que llevó al daño de la membrana.

Ahora se consideran los efectos de los GO sobre la biocompatibilidad/toxicidad de las células inmunitarias. Las interacciones de los GOs con los sistemas inmune y circulatorio son cruciales; una vez administradas, entran directamente en contacto con dichos sistemas [107][107.108]. Los macrófagos son

las células involucradas en el mecanismo de defensa del sistema inmune innato y proporcionan una primera línea de defensa contra microorganismos. Los macrófagos se originan de monocitos de médula ósea que migran a través de la circulación sanguínea. En presencia de bacterias y objetos extraños, los macrófagos activados secretan citocinas y quimioquinas para atraer a las células con receptores de quimioquina, como neutrófilos y monocitos del torrente sanguíneo. Se han realizado varios estudios sobre los macrófagos que actúan como células diana para los GO [109,110,111]. El grafeno y los GOs flaqueles inducen la formación de varias citocinas proinflamatorias, incluyendo IL-1, IL-6, IL-10 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), y quimioquinas, como la proteína quimiotractiva monocitos-1 (CP-1), la proteína inflamatoria del macrófago-1 α (MIP-1), y MIP-1 sobre la activación del macrófago [107]. Los macrófagos son bien conocidos por exhibir comportamientos fagocíticos, lo que conduce a un mecanismo de internalización. En este sentido, los GOs pueden ser internalizados por macrófagos, resultando en inflamación. Russier et al. informaron que la capacidad fagocítica de los macrófagos depende del tamaño de los copos GO [109]. Los macrófagos tienen la mayor capacidad de interiorizar los GOs más pequeños que los grandes. Del mismo modo, Ma et al. demostraron que los pequeños GOs con tamaños laterales de 50x50 nm son fácilmente internalizados por los macrófagos murino J774A.1, mientras que los grandes GOs (750-1300 nm) están preferentemente adsorbidos en sus membranas plasmáticas, desencadenando así receptores similares a peaje (TRL) y el factor nuclear NF- κ B vías para promover proinflamatorios [110]. Los grandes GO son más propensos a interactuar con la membrana celular debido a sus grandes áreas superficiales. Muy recientemente, Mendes et al. investigaron el efecto del tamaño de los Ojos en la viabilidad/toxicidad de los macrófagos y células cervicales HeLa (Figura 10) [111]. En su estudio se utilizaron GOs con un tamaño promedio de 89 y 277 nm. Descubrieron que los grandes copos GO inducen niveles de toxicidad más altos que los pequeños copos, especialmente a un tiempo de incubación más largo de 48 h (Figura 11). El examen TEM reveló que los GOs de diferentes tamaños son internalizados por las células de macrófago (Figura 12) y HeLa a la incubación de 12 y 48 h. En particular, los macrófagos experimentaron un cambio morfológico para la fagocitosis después del cultivo durante 48 h, independientemente de los tamaños. Este cambio morfológico condujo a la formación de grandes vacuolas que contenían GOs.

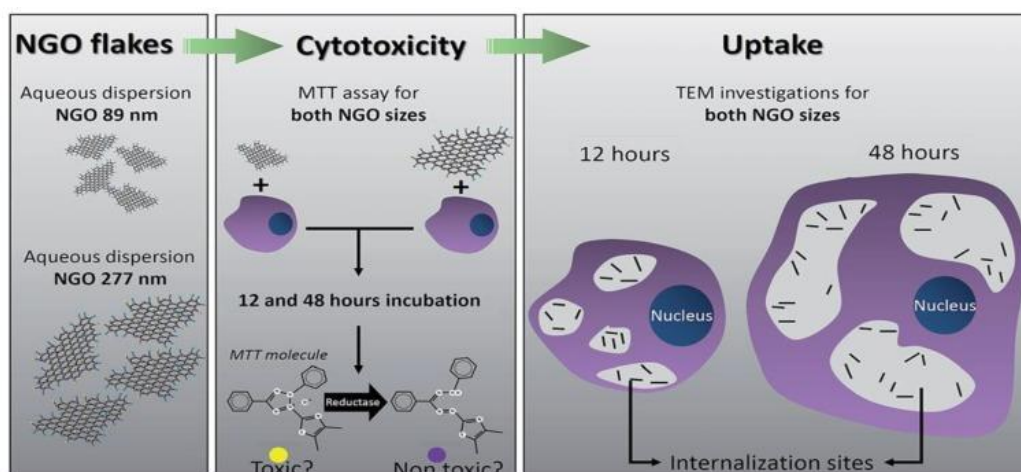


Figura 10

Esquema que muestra las estrategias utilizadas para evaluar la citotoxicidad dependiente del tamaño y la internalización del óxido de nanografeno (ONG). Reproducido de [111] con permiso de la Real Sociedad de Química.

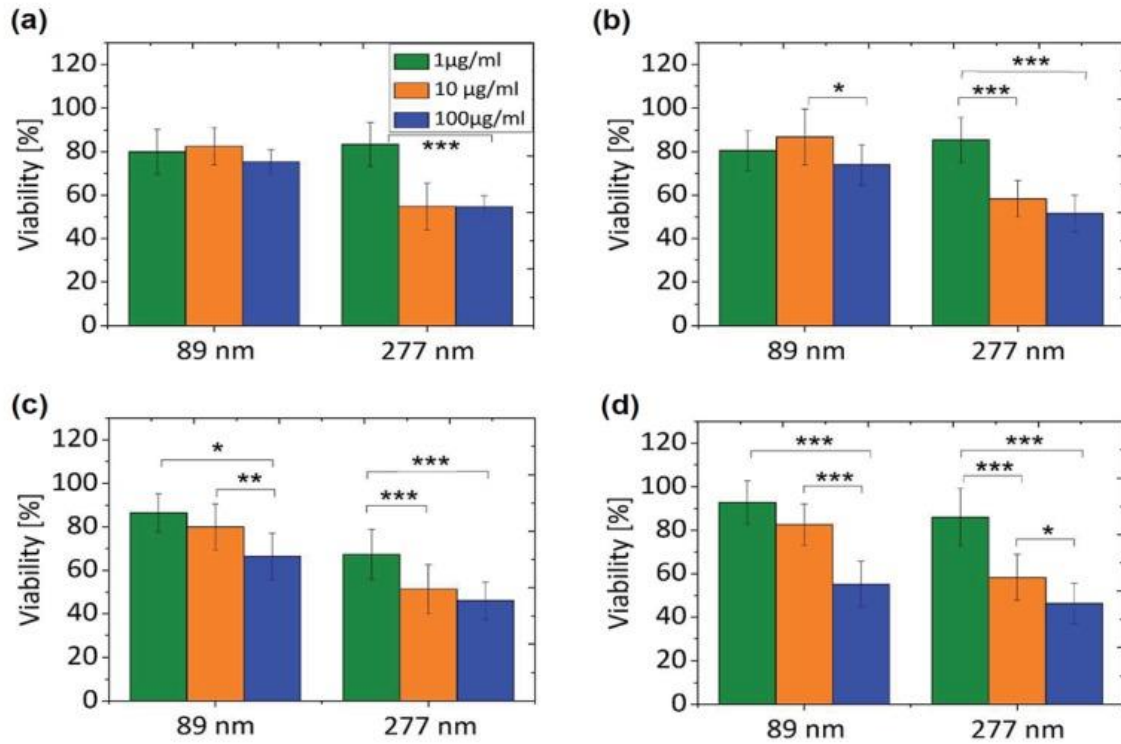
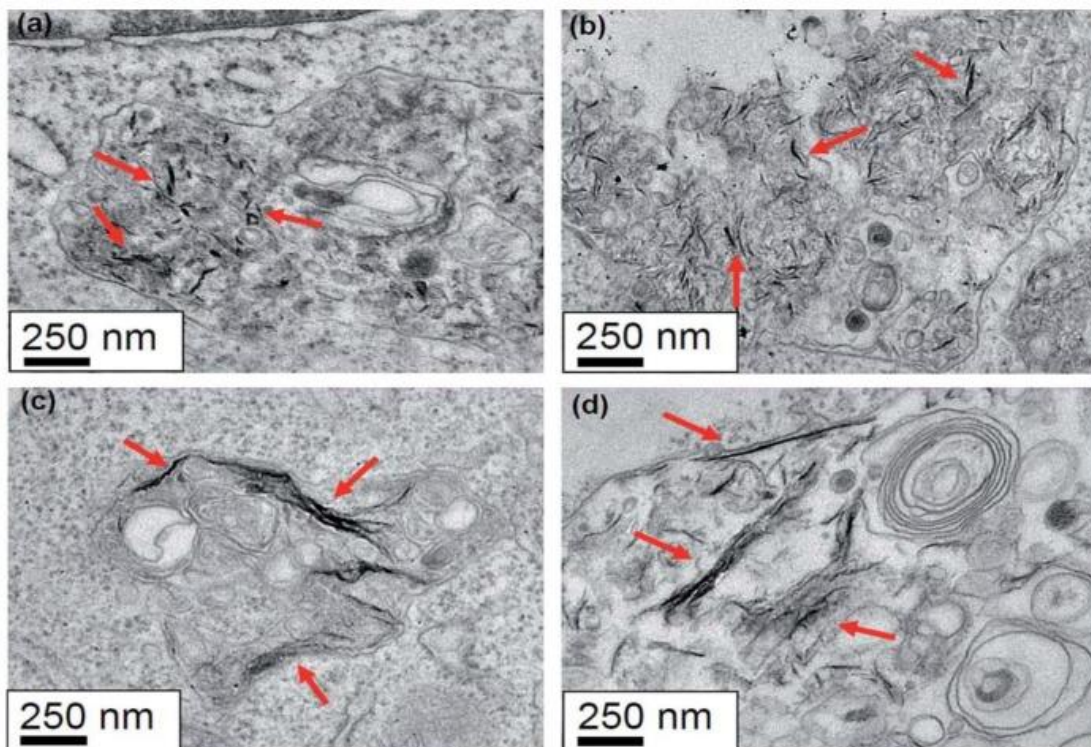


Gráfico 11

(a,c) son los resultados de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol bábo (TT) de células HeLa cultivadas con OG de diferentes tamaños y dosis para 12 h y 48 h, respectivamente. (b,d) son resultados MTT de macrófagos cultivados con Oxis de diferentes tamaños y dosis para 12 h y 48 h, respectivamente. * $p < 0,05$; ** $p = 0,01$; *** $p < 0,001$; barras sin marca media de $p = 0,05$. Reproducido de [111] con permiso de la Real Sociedad de Química.



[Gráfico 12](#)

(a,b) son imágenes TEM de un macrófago cultivado con pequeños GOs para 12 y 48 h, respectivamente. (c,d) son imágenes TEM de un macrófago cultivado con grandes GOs para 12 y 48 h, respectivamente. Los copos GO con tamaños de 89 y 277 nm se internalizan mediante un macrófago, según indican las flecha. Reproducido de [111] con permiso de la Real Sociedad de Química.

Como se mencionó, los GO pueden interactuar con las membranas celulares e inducen daños a través de la formación de ROS, la extracción de lípidos o colesterol de membrana, y la generación de radicales de carbono. La célula sanguínea roja (eritrocito) generalmente carece de capacidad de reparación debido a la ausencia de un núcleo y mitocondrias. El daño de la membrana de eritrocitos se denomina como la hemólisis. Xia y sus compañeros indicaron que la peroxidación lipídica podría conducir a un fallo en la integridad de la membrana de los eritrocitos murinos. Hidratada de la heblisis severa inducida por GO que GO y rGO [87]. Liao et al. informaron que los GOs (765 - 19 nm) activaron la actividad hemolítica de los eritrocitos humanos. Los GOs sonicados con un tamaño más pequeño (342 y 17 nm) exhibieron una tasa de hemólisis más alta que los grandes GOs [45]. Sin embargo, el reclado de GOs con quitosano casi eliminó la actividad hemolítica. Así, los modos de interacción de los GOs con las células (es decir, la suspensión frente a las células adherentes) afectan la viabilidad de los eritrocitos. Recientemente, Papi et al. también indicaron que la actividad hemolítica de los eritrocitos humanos aumenta con la reducción de los tamaños de GO. Esta actividad fue insignificante cuando la corona de la proteína plasmática fue adsorbida en las superficies GO [112].

Aparte de las interacciones GO-eritotio, se dispone de poca información en la literatura que relata el efecto tóxico de los GO en las células primarias humanas. Las células primarias se obtienen directamente de tejido vivo y se establecen para el crecimiento in vitro. Mim refieren el estado fisiológico de las células in vivo y producen resultados más útiles que representan el sistema del cuerpo humano. Se necesita permiso ético para la adquisición de células humanas primarias a partir de órganos de tejidos sanos y enfermos. Muy recientemente, Wu et al. evaluaron la toxicidad de los OGOs al exponerse a las células de epitelio corneal humano primario (hCorEC) y células epitelio de conjuntiva humana (hConECs) con dosis de 12,5o100 g/ml [113]. A partir de los datos del ensayo WST-8, los GOs no inducen la citotoxicidad a hCorECs a 2 h (Figura 13 A), con la excepción del aumento de la necrosis sobre la base de la detección de citometría-apoptosis de flujo a 50 g/ml (figura 13 C). Sin embargo, los GOs causan citotoxicidad significativa a hCorECs después de 24 h. La viabilidad celular disminuye notablemente con el aumento de las dosis de GO (Figura 13 B). A 50 g/ml GO, la citometría de flujo revela un aumento significativo de las células apoptóticas (Figura 13 D). En el caso de hConECs, el ensayo WST-8 indica que casi el 40% de los hConEC están muertos cultivando con 12,5 g/ml GO para 24 h. La viabilidad celular es sólo del 50%, ya que la concentración de GO aumenta a 100 g/ml (Figura 14 A). A 50 g/ml GO, la citometría de flujo indica que el porcentaje de células normales disminuye significativamente, mientras que el porcentaje de células necrosis aumenta notablemente después de la exposición a 24 h (Figura 14 B). Concluyeron que los GO inducen la citotoxicidad dosis y dependiente del tiempo tanto en hCorECs como en hConECs a través de la generación de estrés oxidativo de la detección de ROS.

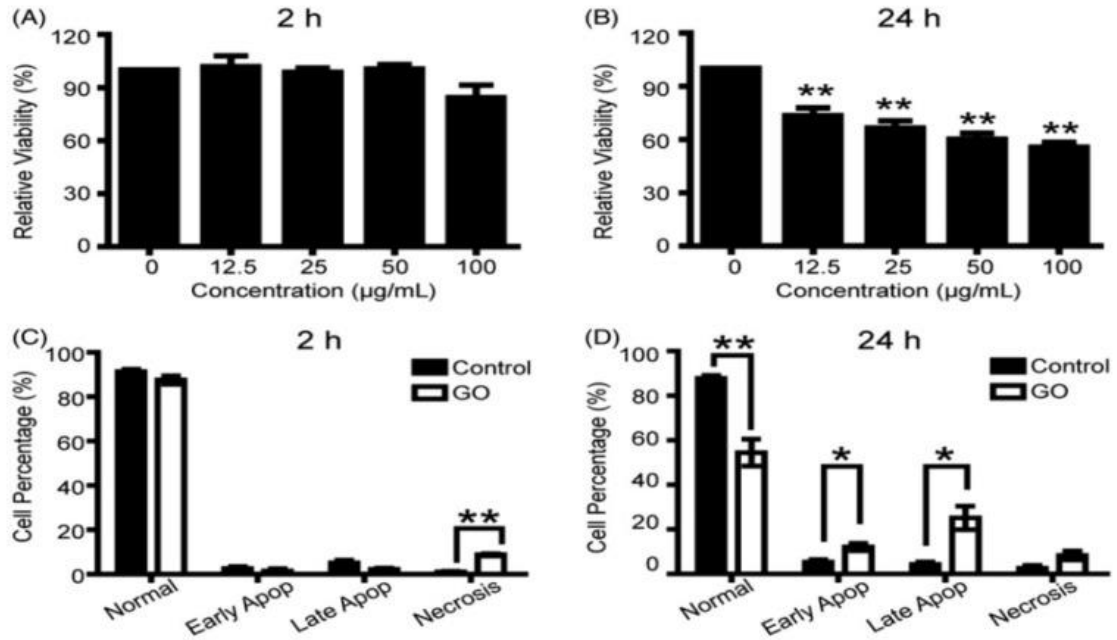


Figura 13

WST-8 ensayos de ensayos de células de epitelio corneal humanos (hCorEC) expuestas a GOs de varias dosis para (A) 2 h y (B) 24 h, respectivamente. Apoptosis flujo de flujo de análisis citométrico de hCorECs expuestos a GO (50 g/ml) para (C) 2 h y (D) 24 h, respectivamente. Se realizaron tres experimentos independientes para ambos ensayos. Los datos se presentaron como medias de SEM (error estándar de media). * denota $p = 0,05$ y ** representa $p = 0,01$. Reproducido de [113] con permiso de Taylor & Francis.

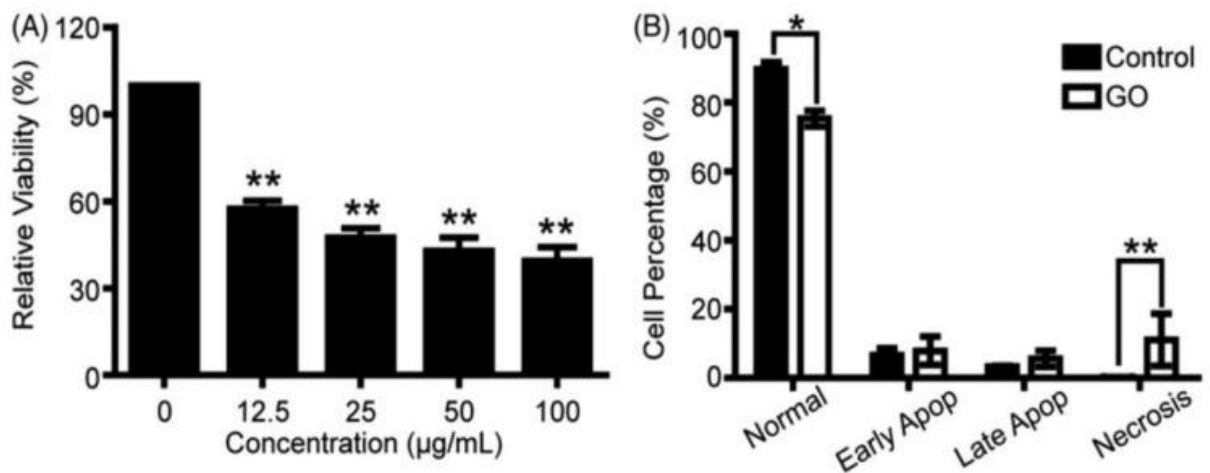


Gráfico 14

(A) WST-8 ensayo para hConECs expuestos a Obidas de diferentes dosis durante 24 h. (B) Análisis citométrico de flujo de apoptosis de hConECs expuestos al GO (50 g/ml) durante 24 h. Se realizaron tres experimentos independientes para ambos ensayos. Los datos se presentaron como medias de SEM. * denota $p = 0,05$ y ** representa $p = 0,01$. Reproducido de [113] con permiso de Taylor & Francis.

PEGylation

Los óxidos de grafeno se pueden funcionalizar con una variedad de moléculas y biomoléculas para aumentar su dispersión en soluciones fisiológicas, mejorando así su biocompatibilidad. Los GOs se funcionalizan típicamente con PEG, amina, ácido acrílico y dextran. En concreto, se ha demostrado que el GO-PEG exhibe una buena biocompatibilidad en comparación con GO [48,114,115]. Wojtoniszak et al. informaron que el GO PEGilado muestra la mejor biocompatibilidad con la línea celular de fibroblastos de ratones (L929) bajo dosis de 3.125 y 12.5 g/m [114]. La viabilidad relativa de las células es superior al 80% en este rango de dosis. Al aumentar la dosis a 50 g/ml, la viabilidad celular disminuye notablemente a alrededor del 60%, es decir, alrededor del 40% de las células están muertas. Du et al. trataron GO-PEG con células linfoma y estudiado la viabilidad celular utilizando el ensayo CCK-8 [115]. Las células que fueron tratadas con GO-PEG (10o100 g/ml) durante 24 h tenían tasas de viabilidad superiores al 80%, lo que implicaba baja citotoxicidad y alta biocompatibilidad de PEG-GO. Por el contrario, se informó que las hojas de GO de OG de PEGylated mostraban citotoxicidad para algunas líneas celulares [116,117,118]. Por ejemplo, se encontró que las hojas de GO-PEG interrumpían los filamentos de F-actina de osteoblastos humanos de Saos-2 osteoblastos humanos, preosteoblastos MC3T3-E1, y macrófagos RAW-264.7 después de la internalización. Estos filamentos eran necesarios para regular la migración celular. La interrupción indujo alteraciones del ciclo celular, la apoptosis y el estrés oxidativo en estas líneas celulares [116]. Recientemente, Mendonca et al. indicaron que el rGO-PEG induce el exceso de ROS en los astrocitos murinos a 100 g/ml, reduciendo la viabilidad celular a sólo 16% después de 24 exposición [117]. Luo et al. demostraron que las hojas GO PEGiladas indujeran la respuesta inmune en macrófagos peritoneales a través de la secreción de citocinas para mejorar las vías de señalización relacionadas con la beta-8 integrina [118]. Como tal, PEGylation no actuó para pasivar las superficies de materiales a base de grafeno.

Más recientemente, Xu et al. estudiaron la viabilidad de los macrófagos murinos (J774A.1) tratados con GO, GO-NH₂, poli-acrilamida)-funcionalizado GO (GO-PAM), GO poli-acrilicado (GO-PAA) y GO-PEG in vitro e in vivo [119]. Entre ellos, se encontró que GO-PEG y GO-PAA eran menos tóxicos que GO, y GO-PAA exhibió la mejor compatibilidad in vitro (Figura 15) e in vivo. Atribuyeron las variaciones a las composiciones diferenciales de la corona de proteínas, particularmente la inmunoglobulina G (IgG), formadas en sus superficies que dictan sus interacciones de membrana celular y tomas celulares. Como se sabe, las proteínas cubren las superficies de los nanomateriales rápidamente cuando esos materiales entran en contacto con un ambiente fisiológico. Tal capa de proteína adsorbida generalmente se denomina como la corona de la proteína. En un trabajo realizado recientemente por Syama et al. [120], se encontró que rGO-PEG (PrGO) no tiene toxicidad en las células madre mesenquimal de médula ósea de ratón (MSC), y no parecía afectar su diferenciación. PrGO se preparó reduciendo el GO-PEG con borohidruro de sodio. PrGO fue interiorizado por MSCs y distribuido por todo el citoplasma. Aunque también indujo la generación de ROS dentro de la célula, no se detectó ningún cambio en la proliferación o función celular. En otro estudio, PrGO presentó una disminución dosis dependiente de la viabilidad de las células epiteliales alveolar A549 después de la exposición de 24 h [121]. Las dosis oscilaban entre 1 y 200 g/ml. El ensayo MTT reveló que más del 80% de las células eran viables a 10 g/m, pero la viabilidad cayó a menos del 76% a 25 g/ml después de 24 h. El ensayo de captación de rojo neuronal (NRU) también mostró una tendencia similar de disminución en la viabilidad celular dosis-dependiente de la dosis. Además, PrGO indujo un aumento dependiente de la dosis y el tiempo en ROS, redujo el MMP y desencadenó la respuesta inflamatoria tras la internalización, lo que llevó a la apoptosis. Por lo tanto, las CAM y las líneas celulares A549 respondieron de manera diferente a PrGO preparado a partir de los mismos procedimientos. En contraste, rGO no fue interiorizado por las células A5, pero se apecó a la membrana plasmática. Como tal, activó NF- κ B uniéndose a las RLDs de la superficie celular y desencadenó la respuesta inflamatoria en consecuencia.

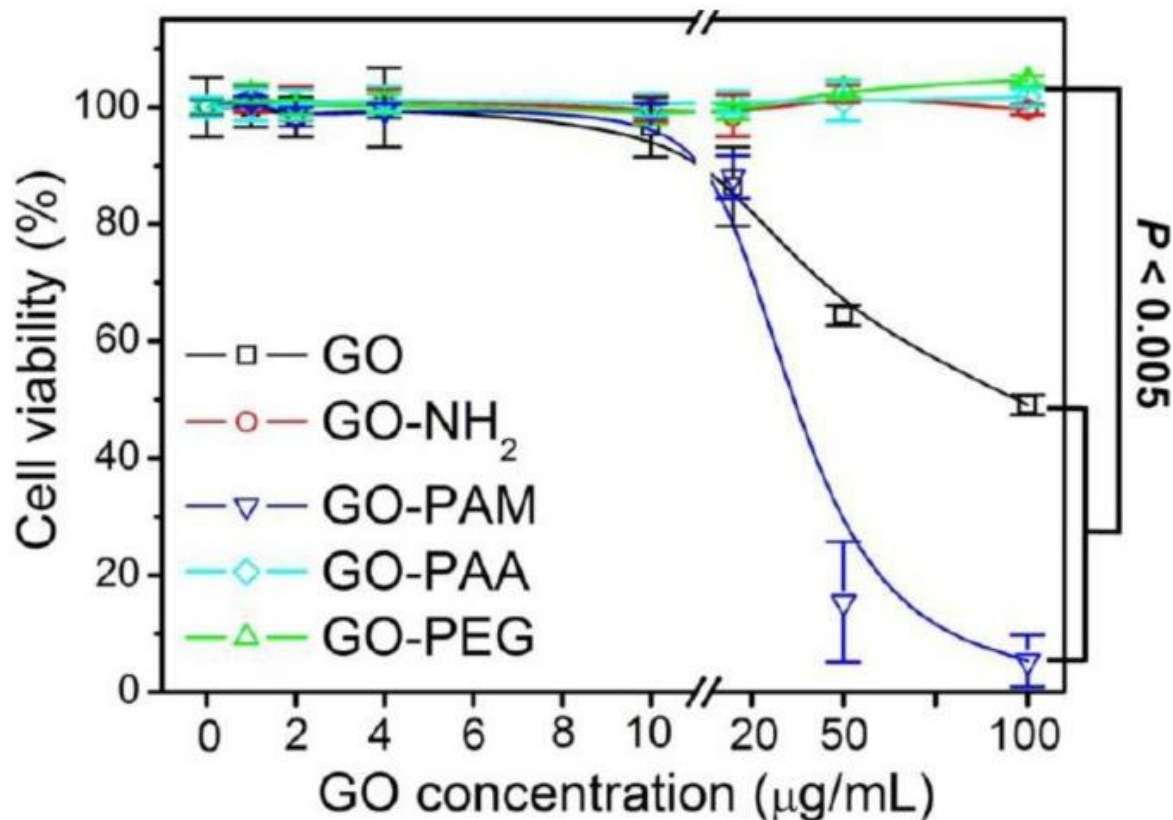


Gráfico 15

Resultados del ensayo CCK-8 de células macrófagos (J774A.1) tratadas con GO, GO-NH₂, poli-acrílamida)-funcionalizada GO (GO-PAM), GO poli(árlica) poli-ácido (GO-PAA) y poli-acrilamida)-polietilglicol (GO-PEG) a diferentes concentraciones para 24 h ($n = 5$). Reproducido de [119] con permiso de The American Chemical Society.

Reducción de la oxidante de Grafeno

Akhavan et al. prepararon nanoplaquetas rGO por sonicación Hojas GO PEGiladas, seguidas de la reducción en hidrazina y la albúmina sérica bovina [122]. La prueba de viabilidad celular reveló importantes destrucciones celulares en los hMSC al tratar con sólo 1.0 g/mL rGO. Los nanoplaquetes rGO indujeron efectos genotóxicos sobre las células a través de la fragmentación del ADN y la aberración cromosómica. Como se mencionó anteriormente, la hidrazina es altamente tóxica y explosiva, por lo que un efecto tóxico significativo puede haber provenido de hidracina residual en la superficie de rGO. Para aplicaciones biomédicas, considera necesario considerar los efectos tóxicos de los disolventes y la reducción de los agentes empleados para exfoliar las láminas de grafeno. Muchos de estos reactivos químicos no cumplen con las normas de seguridad. Wu et al. demostraron recientemente que el rGO es más tóxico que el GO al exponerse a macrófagos derivados de la médula ósea (BMDMs) y la línea celular J774A.1 [123]. En su estudio, el rGO provocó niveles más altos de citoquinas proinflamatorias, es decir, TNF- α e IL-6 en los macrófagos, particularmente en las MMO de la DMO. Atribuyeron esto a la rGO induce un mayor estrés oxidativo en los macrófagos en comparación con el GO. Se observa que emplearon sulfuro de sodio (Na₂S) para reducir el GO. El sulfuro de sodio es un agente tóxico que causa irritación o quemaduras humanas graves, y reacciona con aire húmedo o ácido para producir H₂S tóxico. Consideramos que el Na₂S residual en rGO induce citoquinas pro-inflamatorias, lo que conduce a la activación de macrófagos.

Para abordar la citotoxicidad inducida por la hidrazina, Gurunathan et al. prepararon con éxito rGO usando una cepa de bacteria, es decir, Pseudomonas aeruginosa como reactivo reductor para GO [124]. Luego expusieron fibroblas embrionatos embrionarios primarios de ratón (PMEF) a GO prístinos, microbially reducidos GO (M-rGO) y hidrazina redujeron el GO (H-rGO) de diferentes

concentraciones. Los resultados del ensayo WST-8 indicaron que la viabilidad celular se mantiene en torno a 91,0 y 2,0% tratando las FFE con 20o100 g/mL M-rGO (Figura 16 a). Sin embargo, H-rGO muestra un nivel significativo de toxicidad en comparación con M-rGO. La viabilidad celular cae por debajo del 60% en el tratamiento con 20 g/ml H-rGO. Los datos del ensayo azul Trypan también revelaron que la mortalidad celular se mantiene en torno al 4% al tratar con un alto nivel de M-rGO (100 g/ml), siendo el mismo que el del control (Figura 16 b). En contraste, H-rGO induce la tasa más alta de muerte cuando se compara con M-rGO. Sus resultados demuestran claramente el efecto tóxico de la hidrazina a las células biológicas. Aunque la biomasa de bacterias puede reducir el GO y minimizar el efecto tóxico de la rGO de manera efectiva, su uso es muy limitado para el campo biomédico. Esto se debe a que *Pseudomonas aeruginosa* puede causar el tracto urinario y las infecciones respiratorias, neumonía y enfermedades de dermatitis.

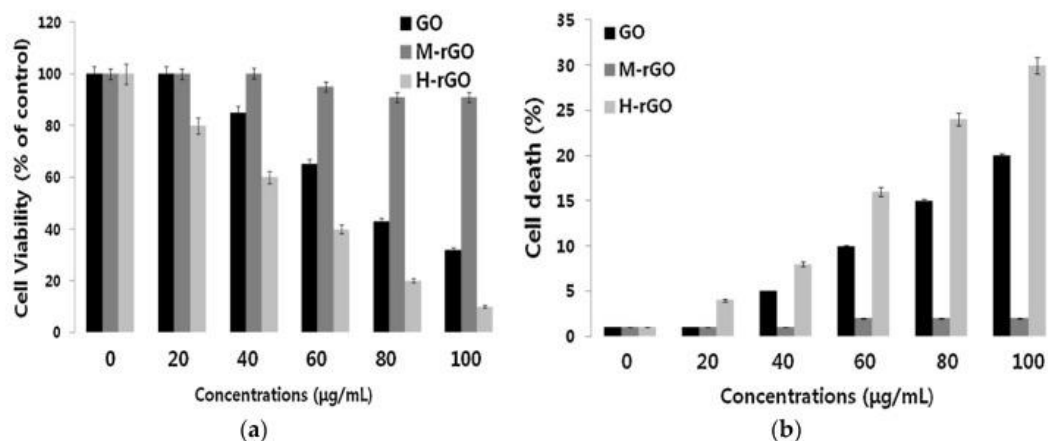
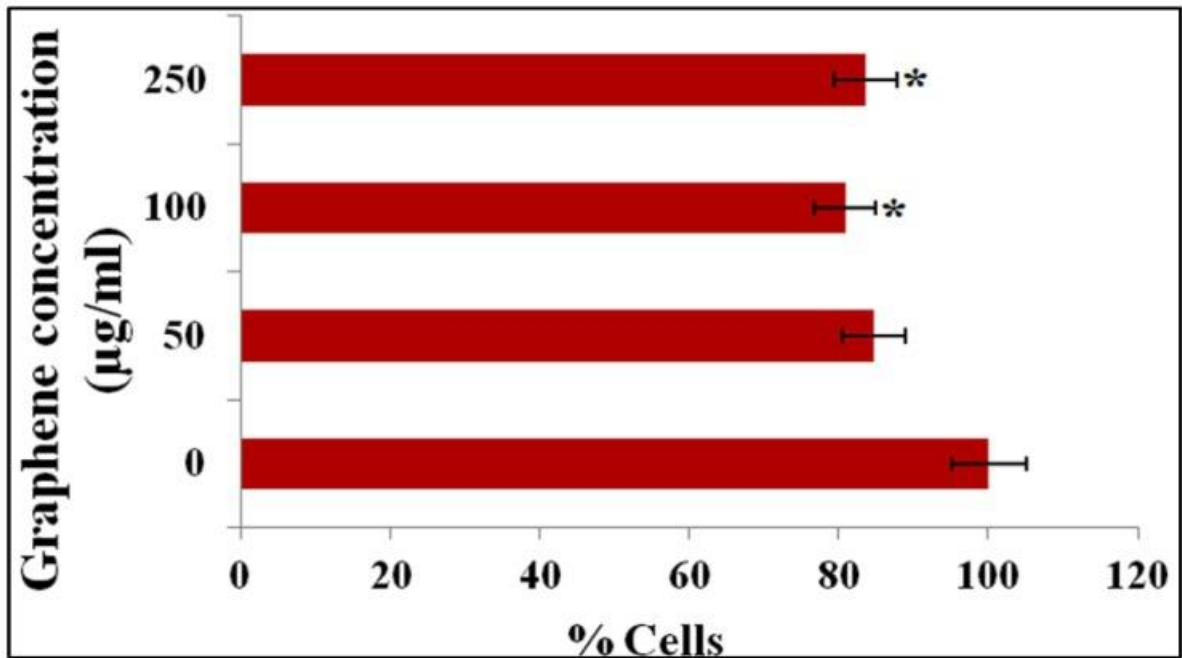


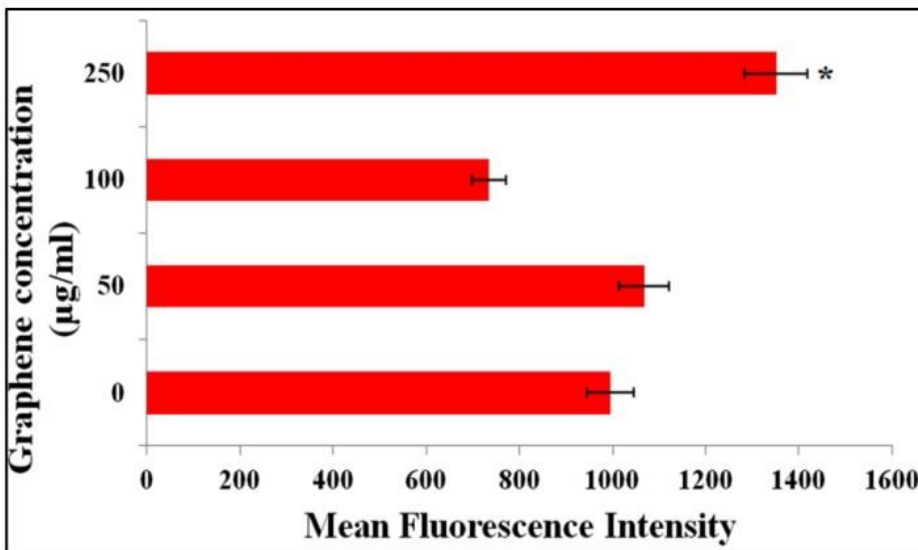
Gráfico 16

a) WST-8 ensayo para fibroblastos embrionarias de ratón primario expuestos a GO, M-rGO y H-rGO de diferentes concentraciones durante 24 h. Las barras de errores representan un error estándar de la media ($n = 3$); $p = 0,05$; (b) Mortalidad por células de fibroblastos embrionarios primarios de ratón (PMEF) determinadas a partir de ensayos azules de tripan en la exposición de 24 horas a GO, M-rGO y H-rGO de diferentes concentraciones. Las barras de error representan el error estándar de la media ($n = 3$); $p = 0,05$. Reproducido de [124] con permiso de Elsevier.

Más recientemente, Dasgupta et al. utilizaron rGOs de diferentes dosis sintetizadas en verde (50, 100 y 250 g/ml) para investigar sus interacciones con linfocitos humanos derivados de muestras de sangre fresca [105]. Los GO se redujeron en una solución de extracto de setas silvestres para producir rGOs. Varios ensayos, incluyendo MTT, absorción roja neuronal, citometría de flujo y ROS se utilizaron para pruebas celulares in vitro. Los datos de MTT no revelaron cambios significativos en la actividad mitocondrial. El ensayo de absorción roja neutra (NRU) mostró una pérdida de integridad lisosomal en el contenido rGO 100 g/ml (Figura 17 a). La citometría de flujo indicó que la absorción de yoduro de propidio (PI) aumenta notablemente en el nivel de rGO más alto (250 g/ml), demostrando una pérdida de integridad de la membrana (Figura 17 b). Aparentemente, los rGO sintetizados en verde son menos tóxicos cuando se comparan con contrapartes rGO preparadas a partir de la estrategia convencional utilizando reactivos para reducir tóxicos.



(a)



(b)

[Gráfico 17](#)

a) La absorción roja neural y **(b)** los resultados de la citometría de flujo (estimación del IPI) para el rGO sintetizado en verde expuestos a las células de linfocitos humanos. Reproducido de [105](#)[105] con permiso de Biblioteca Pública de Ciencias.

En un estudio reciente realizado por Mittal et al., se encontró que el GO induce toxicidad a niveles más altos que rGO al exponerse a las células epiteliales alveolares humanas A549 y epitelial bronquial (BEAS-2B) [125]. La presencia de grupos oxigenados en los GOs llevó al aumento de la citotoxicidad, debido a la formación de estrés oxidativo y oxidada. Del mismo modo, Das et al. demostraron que el GO es más tóxico que el rGO del mismo tamaño al exponerse a las células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) [126]. El GO con abundantes grupos funcionales de oxígeno tiene un mayor potencial para interactuar con las células endoteliales, lo que conduce a un alto nivel de ROS y daño al ADN. El estrés oxidativo se manifiesta por las elevadas expresiones génicas de heme oxigenasa 1 (HO1) y cýtotoxicidad tioredoxina reductasa (TrxR).

Sasidharan et al. estudiaron el efecto de TRG y TRG funcionalizado carboxil (f-TRG) en la viabilidad de las células renales de Mono Vero [127]. La medición del ángulo de contacto reveló que los copos TRG eran hidrofóbicos con un gran ángulo de contacto con agua de 162°, y los copos f-TRG eran hidrofílicos con un ángulo de 30° debido a la presencia de grupos de carboxililo. Se encontró que los copos hidrofóbicos de TRG se acumulaban en la membrana plasmática, mientras que los copos f-TRG fueron internalizados por las células, como lo revela la fluorescencia confocal microscópica. Como tal, la TRG hidrofóbica puede inducir interacciones fuertes con lípidos de membrana que conducen a toxicidad física directa, como la extracción de lípidos, como se mencionó anteriormente. La viabilidad de las células disminuyó notablemente con el aumento de las concentraciones de TRG. A 100 mg/ml, casi el 50% de las células estaban muertas y aumentaron a cerca del 60% a 300 mg/ml. En contraste, los especímenes f-TRG presentaron efectos insignificantes sobre la viabilidad, incluso a una alta concentración de 300 mg/ml (figura 18 a). A pesar de que los copos f-TRG fueron internalizados por las células, su actividad metabólica no se vio afectada. La Figura 18 b muestra fuga de LDH celular debido a las exposiciones TRG y f-TRG. Como se sabe, las moléculas LDH se liberan en el medio de las células con membrana dañada. Por lo tanto, el nivel de LDH en el medio de cultivo es un indicador de daño de la membrana celular. A 300 mg/ml, los copos TRG causaron muerte celular completa, pero no hubo fugas de LDH. No está claro cómo f-TRG podría tener un efecto beneficioso en la viabilidad celular, y sus grupos de carboxil no interactúan con las células de Vero, como en el caso de GO (con grupos de carboxilo) que muestran interacciones con células pulmonares epiteliales humanas y HUVEC. Este efecto puede deberse a diferentes tipos de células y características fisicoquímicas del GO y f-TRG. En la tabla 1 se resume la toxicidad de tamaño, dosis y tiempo dependiente inducida por el grafeno y sus derivados tras la exposición con células de mamíferos.

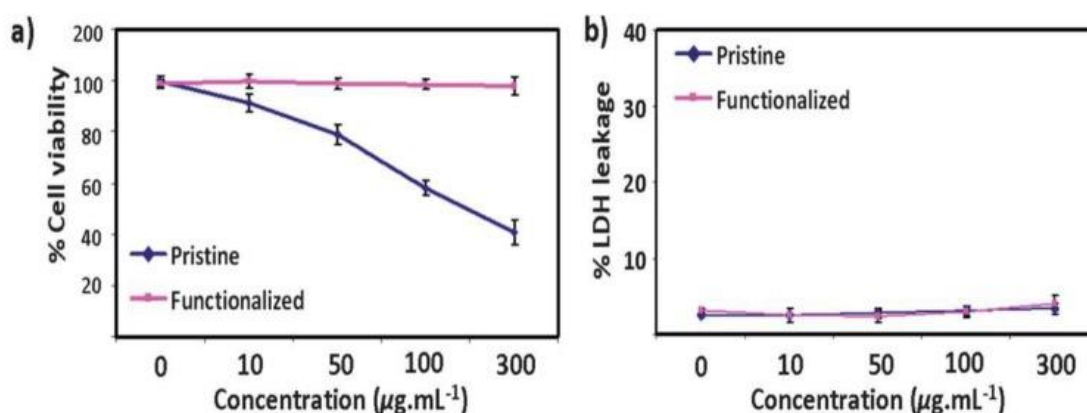


Figura 18

a) Viabilidad celular y b) fuga de deshidrogenasa de lactato (LDH) de células de Vero tratadas con TRG y f-TRG a diferentes concentraciones. Reproducido de [127] con permiso de la Royal Society of Chemistry.

Cuadro 1

La citotoxicidad in vitro inducida por el grafeno y sus derivados.

Material	Tamaño másteral, nm	Tipo de celda	Tiempo de concentración exposición	de y Efecto citotóxico	Ref.
Gráfico CVD	Esesor: 3 a 5 capas	PC12	0,01, 0,1, 1, 10 y 100 g/ml para 1-24 h	Apoptosis a 10 g/mL	[89]
GO	200 y 700	RAW 264.7	1, 10, 50 y 200 g/ml para 6 y 24 h	Apoptosis por poros de membrana a 10 g/mL	[84]
GO	200 y 700	A549	1, 10, 50 y 200 g/ml para 6 y 24 h	Toxicidad dependiente de la dosis. Muerte celular a 50 g/ml	[84]
GO	979	Queratinocitos	de 0,4, 1.2, 3.7, 11.1,	Producción de ROS dependiente	[88]

Material	Tamaño másteral, nm	Tipo de celda	Tiempo de concentración exposición	de y Efecto citotóxico	Ref.
		piel humana	33,3 y 100 g/ml	por de la dosis y el tiempo	
GO	342-765	Erythrocyte humano	3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 y 200 g/ml para 3 h	Hecmólisis dependiente de la dosis y el tamaño	[45]
GO	385	HepG2	1,2, 4, 8 y 16 g/ml para 72 h	Daño de membrana de plasma a 4 g/ml	[43]
GO	440-670	Spermatozoa de la Pornina	0,5, 1, 5, 10 y 50 g/ml para 1 a 4 h	Toxicidad dependiente de la dosis. Muerte celular a 10 g/mL	[82]
GO	- ----	hCorECs; hConECs	12.5, 25, 50 y 100 g/ml para 2 h y 24 h	Apoptosis a 50 g/mL	[113]
GO	201	Macrofage Murine	de 1, 2, 4, 10, 20, 50 y 100 g/ml para las 24 h	Daño de membrana celular a 10 g/ml	[119]
GO-PEG	10.00 a 120	Saos-2; MC3T3-E1; RAW-264.7	75 g/ml para 24 h	GO-PEG acumulado en F-actin; formación ROS	[116]
GO-PEG	200	Macrofage Murine	de 10 y 40 g/ml para 6, 12, 24 y 48 h	Respuesta de inflamación mediante la ocultación de citoquinas	[118]
GO-PAM	363	Macrofage Murine	de 1, 2, 4, 10, 20, 50 y 100 g/ml para las 24 h	Daño de membrana celular a 10 g/ml	[119]
rGO-PEG	910	Astroцитos murina	de 10 y 100 g/mL	Exceso de ROS y muerte celular a 100 g/ml	[117]
rGO; rGO-PEG	- ----	A549	1o200 g/ml	Toxicidad dependiente de la dosis. Apoptosis a 25g/mL	[121]
Verde rGO	65 y 90	Lintocitos humanos	50, 100 y 250 g/mL	Pérdida de integridad lisosomal a 100 g/mL	[105]
rGO	11	hMSCS	0,1 g/ml	Fragmentación del ADN y aberración cromosómica	[122]
GO; rGO	400-800	HUVEC	10 g/mL	GO indujo más niveles de ROS, HO1 y TrxR, y daño de ADN que rGO	[126]
hGO; rGO	105 150	BEAS-2B; THP-1	25, 50, 100 y 200 g/ml para 24 h	hGO indujo toxicidad debida a peroxidación lipídica. rGO tuvo poco efecto en la viabilidad celular	[87]
hGO; rGO	105 150	Erythrocyto muine	25, 50, 100 y 200 g/mL	rGO y hGO mostraron tasas de hemólisis insignificantes y altas respectivamente	[87]
TRG	- ----	Mono Vero	10, 50, 100 y 300 g/ml para 24 h	Apoptosis a 100 g/mL	[127]

[Abrir en una ventana separada](#)

3.2. En Vivo Modelo Animal

En el sistema in vivo, todo el animal vivo se emplea para evaluar el efecto de la toxicidad inducida por nanomateriales a base de grafeno. La información útil relacionada con el grafeno puede obtenerse mediante exámenes histológicos y microscópicos de tejidos orgánicos y células inflamatorias relevantes de los animales después de la alimentación oral, administración intravenosa, inyección intraperitoneal (*i.p.*), instilación intratraqueal, aspiración orofaríngea, inyección subcutánea, etc. El efecto in vivo de

GO y sus derivados depende en gran medida de la naturaleza química de los nanomateriales, el tiempo de exposición, la dosis y la vía administrativa, y el tipo de los animales empleados para las pruebas. Del estudio inicial de Yang et al., PEG-GO no indujo una toxicidad apreciable en ratones después de la administración intravenosa bajo una dosis de 20 mg/kg durante tres meses basada en bioquímica sanguínea y exámenes hematológicos y histológicos [48]. PEG-GO se acumuló principalmente en el hígado y el bazo, y se extrajo de estos órganos mediante excreción renal y fecal. En otro estudio, administraron 4 mg/kg de GOs en ratones balb/c a través de la administración oral y la administración oral seguida de exámenes histológicos y hematológicos [128]. Según sus hallazgos, GO retuvo en el cuerpo del ratón durante un largo período de tiempo después de la inyección de *i.p.*, su toxicidad para los ratones fue insignificante. Ali-Boucetta et al. indicaron que el GO purificado no indujo inflamación y formación de granulomas en ratones después de la inyección de *i.p.* [129]. Estudios in vivo de otros trabajadores también encontraron que el GO no indujo cambios en la aparición del globo ocular y la presión intraocular de conejos [130], mientras que amino-GO no indujo la trombotoxicidad pulmonar en ratones después de la inyección intravenosa [].

Por el contrario, el LPE-grafeno prístino se encontró tóxico y se distribuyó principalmente en el cerebro y el riñón de embriones de pollo [132]. El hallazgo no fue sorprendente porque el LPE-graphene contenía residuos tóxicos de disolvente y tensioactivos, como se mencionó anteriormente. Varios estudios in vivo en ratones revelaron que el GO induce la respuesta inflamatoria, edema pulmonar y formación de granulomas, especialmente a altas concentraciones. Además, se encontró inflamación dosis, tamaño y dependiente del tiempo en el pulmón y el hígado, con infiltración celular y fibrosis [47,110,118,133,134,135]. Por ejemplo, Wang et al. informaron que los GO con una dosis baja (0,1 mg) y media (0,25 mg) no tenían toxicidad obvia para los ratones de Kunming (KM) después de la inyección intravenosa [47]. A una dosis alta de 0,4 mg por animal, se observó toxicidad crónica, como la muerte de ratones y la formación de granuloma pulmonar. Las muertes ocurrieron 1 a 7 días después de la inyección intravenosa. Además, los GO se ubicaron principalmente en el pulmón, el hígado y el bazo. Zhang et al. indicaron que el efecto in vivo de los OGO depende de la dosis. A una dosis de 1 mg/kg, baja absorción en el sistema retículo-epitelial (RES) y no se encontraron cambios patológicos en ratones por inyección intravenosa durante 14 días [134]. Sin embargo, se observó infiltración de células inflamatorias, edema pulmonar y formación de granuloma en el pulmón a una dosis de 10 mg/kg. Ma et al. administraron 5 mg/kg de peso corporal de pequeños GOs (50-550 nm) y grandes GOs (750-1300 nm) en ratones masculinos de pedales a través de *i.p.* e instilación intratraqueal durante tres días [110]. Indicaron que los grandes GOs desencadenantes aumentaron la expresión de citoquinas inflamatorias en la cavidad abdominal y la sangre de ratones después de la inyección de *i.p.* Esto llevó a un mayor reclutamiento de leucocitos en cavidades peritoneales, resultando en inflamación aguda. Después de la instilación intratraqueal, los grandes Ogo también causaron un aumento drástico en la producción de citocinas pulmonares y estancatorias sistémicas, y el reclutamiento de células inflamatorias. Más recientemente, Amrollahi-Sharifabadi et al. inyectado intraperitoneally OGs (5-10 mimbres) con dosis de 50, 150 o 500 mg/kg en ratas Wistar [135]. Los GO entraron primero en la sangre y luego se localizaron en el hígado. Como se sabe, la bilirrubina es una enzima hepática que puede servir como biomarcador para el daño hepático. A partir del análisis hematológico, los OSM con una dosis de 500 mg/kg produjeron un aumento significativo en el nivel sérico de bilirrubina después de 21 días, lo que implica toxicidad hepática. Además, los GOs indujeron inflamación y una reacción granulomatosa de una manera dosis-dependiente. Xia y sus compañeros llevaron a cabo la aspiración orofaringeana de GO, hGO y rGO en ratones C57BL/6 [87]. Denunciaron que el GO hidratado es más tóxico que el GO y el rGO. hGO indujo inflamación pulmonar aguda, acompañada de la mayor peroxidación de lípidos en macrófagos alveolares y producción de citocinas debido a la formación de radicales de carbono.

Del cultivo de células in vitro, el GO-PEG indujo las respuestas inmunitarias a través de la secreción de citoquina en macrófagos murinos. Por lo tanto, PEGylation no ayudó en la pasivando superficies GO [117,118]. Es interesante saber si las hojas GO-PEG inducen efecto tóxico en modelos animales in vivo. Recientemente, Xu et al. administraron ratones de balb/c con GO, GO-PEG, GO-PAA, GO-NH₂, y GO-PAM a 0,05, 1, 5, 10 y 20 mg/kg de peso corporal mediante inyección intravenosa de vena [119]. La tasa de supervivencia en ratones fue del 100%, 80%, 60%, 20% y 0%, respectivamente, a las dosis prescritas de GO. Los ratones administrados con GO a 1 mg/kg durante 1 día y 14 días sufrieron de agotamiento significativo de plaquetas en la sangre periférica. El GO-PAM y el GO-PEG también causaron agotamiento de plaquetas durante un día, pero no se encontró agotamiento en el GO-NH₂ y GO-PAA. Los GO se acumularon principalmente en el pulmón, el bazo y el hígado, como indica el análisis de la espectrometría de masa desor/ionización láser (LDIMS) (Figura 19 a). La característica de los pulmones se volvió más oscura con el aumento de las dosis de GO, lo que implica una mayor aglomeración y

acumulación de GOs (Figura 19 b). Las observaciones histológicas de los órganos pulmonares y del bazo se llevaron a cabo con hematoxilina y eosina (H&E) y la mancha de la tricromática de Masson (Figura 19 c,d). En la mancha H&E, los núcleos de las células estaban manchados de azul por hematoxilina, mientras que el citoplasma y la matriz extracelular estaban manchados de rosa con eosina. El GO y el GO-PAM indujeron lesiones pulmonares graves, como lo demuestra el engrosamiento de la pared alveolar debido a la infiltración de células inflamatorias, y el aumento del colágeno en los bronquios. Sin embargo, el GO-PAA causó un daño menor en el pulmón y el hígado en comparación con otros ratones tratados con GO, GO-NH₂, GO-PAM y GO-PEG. Xu et al. atribuyeron estas diferencias a los cambios distintos de los contenidos de IL-6 y colágeno 1 debido a la fibrosis (Figura 19 e,f) y a las composiciones de las coronas de proteínas. El GO-PAA y el GO-PEG contenían un menor contenido de inmunoglobulina G en sus coronas proteicas (30-40%) que GO, GO-NH₂, y GO-PAM (50-70%). A partir de estos, GO-PEG es moderadamente más seguro que GO in vivo, GO-PAA muestra la mejor compatibilidad, y GO-PAM exhibe la citotoxicidad más alta in vitro e in vivo.

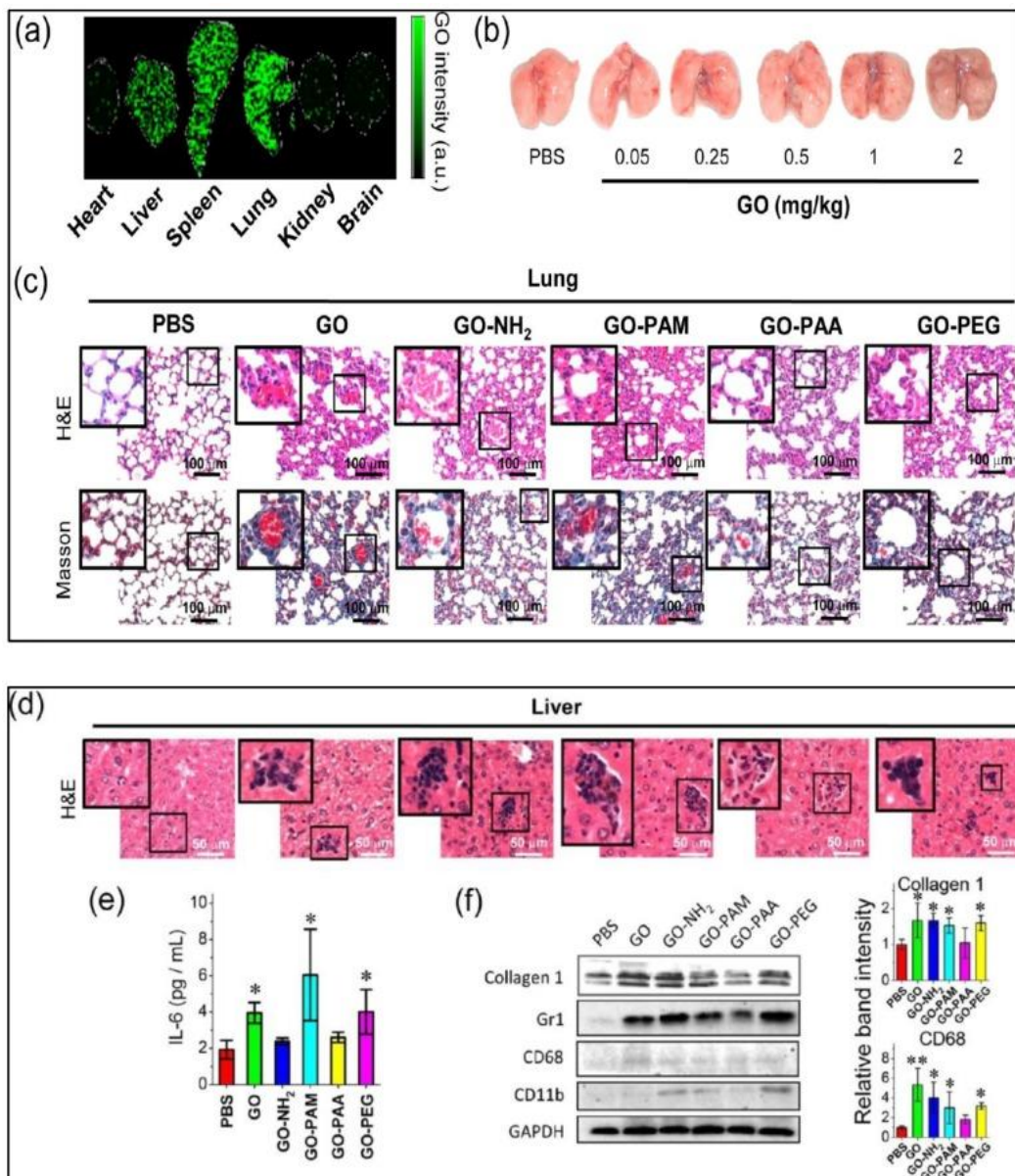


Gráfico 19

a) Análisis de imagen de desorción/ionización de la masa láser (LDIMS) que muestra biodistribución de GO en ratones tratados con GO (2 mg/kg de peso corporal) durante un día. **(b)** Imágenes de pulmones de ratones después de tratar con GO a 0,05, 0,25, 0,5, 1 y 2 mg/kg de peso corporal durante 1 día. Imágenes

histológicas de (c) pulmones manchados con H&E y Masson's tricromo y (d) hígados con H&E de ratones inyectados con 1 mg/kg de GO durante 14 días. Las imágenes magnificadas de los cuadrados de línea son los alvéolos pulmonares agrandados. Las manchas oscuras son complejos de células GO en hígados. Para la tinción tricromos de Masson, el color azul revela colágeno en el pulmón. (e) niveles de IL-6 en sera de rasón tratado con una dosis de 1 mg/kg de peso corporal durante 1 día ($n = 5$). (f) Marqueadores de proteínas de colágeno 1, Gr1, CD68 y CD11b medidos por análisis de manchas occidentales en pulmones tratados a 1 mg/kg de peso corporal durante 14 días. Los datos cuantificados se representan en el panel derecho ($n = 4$). * y ** implican $p = 0,05$ y $p .05$ en comparación con los ratones tratados con PBS. Reproducido de [119] con permiso de la Sociedad Química Estadounidense.

Syama et al. administraron PrGO (rGO-PEG) con una dosis de 10 mg/kg de peso corporal en ratones albino suizos a través de inyecciones intraperitoneales e intravenosas para 3, 7, 14 y 21 días [136]. La microscopía de Raman confocal se utilizó para analizar la biodistribución de PrGO. Imágenes Raman de sangre, orina, médula ósea y otros órganos al final de los períodos prescritos mostraron la presencia de láminas PrGO en el cerebro, hígado, riñón, bazo y médula ósea. El análisis de la orina reveló una intensidad PrGO muy débil, demostrando una baja tasa de excreción renal de PrGO a través del riñón. La absorción de PrGO en el cerebro de ambas vías de inyección reveló que PrGO puede cruzar la barrera hemato-brana (BBB) y luego acumular en el cerebro. Recientemente, Shang et al. administraron 4 mg/kg GOs en ratones balb/c a través de la inyección de *i.p.* Los altos niveles de ROS y MDA debido a la peroxidación lipídica fueron responsables de los daños cerebrales y renales [23]. Syama et al. también demostraron que las rutas de inyección también afectan a la translocación de PrGO en órganos de ratones [136]. PrGO se inyectó por vía intravenosa traslizado del sistema circulatorio sanguíneo en el hígado y el bazo después de tres días. La ingesta máxima de PrGO se encontró en el hígado y el bazo, seguido de riñón y cerebro. En el caso de la administración de *i.p.*, PrGO fue primero adsorbido en la cavidad peritoneal y luego acumulado en el hígado. La inyección repetida de PrGO causó lesión hepática aguda y aumentó la proliferación de esplenocitos. La proliferación de esplenocitos estimuló las respuestas del sistema inmunitario debido a la presencia de una variedad de tipos celulares con diferentes funciones inmunitarias, tales como macrófagos, células dendrita, células B y células T dentro del bazo. Del mismo modo, Mendonca et al. informaron que rGO y rGO-PEG debilitan la unión BBB de ratones Wistar como resultado de la generación de peroxidación lipídica [117,137]. Los aumentos en los niveles de enzima antioxidante de catalasa, SOD-1 y tiobarbituric acid sustancias reactivas en el hipocampo fueron responsables de la generación de estrés oxidativo. Estos hallazgos indicaron que la funcionalización superficial de los GOs y los rGOs con PEG no puede eliminar completamente la citotoxicidad que es inducida por grafeno. Se necesitan estudios más sistemáticos de toxicidad versus problemas de biocompatibilidad, especialmente en modelos animales, para comprender los efectos biológicos y la seguridad de los nanomateriales de grafeno para los seres humanos [138]. De los estudios en animales in vivo, ROS y estrés oxidativo parecen ser los factores clave para causar daño celular a la exposición a los GOs [23,136,137]. Como se sabe, los niveles elevados de ROS pueden interrumpir los lípidos, las proteínas y el ADN, resultando en el daño de la membrana y la muerte celular eventual [139]. Por lo tanto, el estrés oxidativo está vinculado a una amplia gama de anomalías patológicas y enfermedades degenerativas, especialmente eritrocitos y células cerebrales que implican el transporte de oxígeno y la respiración aeróbica [140,141,141,143,144,14144,145]. En la Tabla 2 se presenta una lista de estudios in vivo que resumen las diferentes rutas administrativas de los nanomateriales basados en GO y sus efectos biológicos asociados.

Cuadro 2

Estudios in vivo que muestran diferentes vías de administración de GOs y GOs funcionalizados.

Material	Modelo animal	Dosificación	Proceso de administración	de Efecto biológico	Ref.
GO	A ratones Balb/c	4 mg/kg	Alimentación oral e inyección de <i>i.p.</i>	Toxicidad insignificante en ratones	[128]
GO	Mices	50 g/ratón	Introyección intraperitoneal	No hay inflamación aguda y crónica después de la inyección intraperitoneal	[129]
GO	Conejos	100o300 g/ojo	Introyección intratvivereal	Sin cambios en la apariencia del globo ocular y la presión intraocular	[130]
GO-PEG	A ratones	20 mg/kg	Inyección	baja absorción por FER; no hay signos	[48]

Material	Modelo animal	Dosificación	Proceso de administración	de Efecto biológico	Ref.
	Balb/c		intravenosa	de toxicidad en el bazo y el hígado	
GO-NH ₂	Mices	250 g/kg	Inyección intravenosa	No tromboembolismo pulmonar	[131]
GO	A ratones de KM	0,1, 0,25 y 0,4 mg por ratón	Inyección intravenosa	Goles encontrados en el pulmón, el hígado y el bazo; inflamación pulmonar dependiente de la dosis y granuloma	[47]
hGO; GO	A ratones B6	2 mg/kg	aspiración orofaríngea	Los GOs hidratado indujeron una inflamación pulmonar más grave y la peroxidación de los lípidos en macrófagos alveolares que los GO	[87]
GO	A ratones Balb/c	4 mg/kg	Introyección intraperitoneal	Los GOs indujeron daños cerebrales y renales al aumentar ROS y MDA, pero disminuyendo los niveles de glutatión	[23]
GO	A ratones Balb/c	5 mg/kg	Administración intravenosa intratracheal	Grandes GOs (750-1300 nm) inducidos a la producción de citocinas pulmonares y sistémicas muy altas y reclutamiento de células inflamatorias	[110]
GO	A ratones de KM	10 mg/kg	Inculaciones intratraqueales	Los GOs se retuvieron principalmente en el pulmón. Lesión pulmonar aguda y fibrosis pulmonar crónica.	[133]
GO	Mices	10 mg/kg	Inyección intravenosa	Infiltración de células inflamadas, edema pulmonar y formación de granuloma en el pulmón	[134]
GO	rata Wistar	50, 150, o 500 mg/kg	Introyección intraperitoneal	Reacción granulomatosa con formación celular gigante; degeneración neuronal y necrosis	[135]
rGO	rata Wistar	7 mg/kg	Inyección intravenosa	rGO entró en el hipocampo y el tálamo, reducción de la estanqueidad paracelular de BBB	[137]
rGO-PEG	rata Wistar	7 mg/kg	Inyección intravenosa	rGO-PEG redujo la función de barrera hematoencefalica debido a la generación de peroxidación de ROS y lípidos	[117]
rGO-PEG	Mitones albino	10 mg/kg	Intravenosas <i>i.p.</i> inyecciones	rGO-PEG se distribuye en hígado, médula de huesos, bazo y cerebro	[136]

[Abrir en una ventana separada](#)

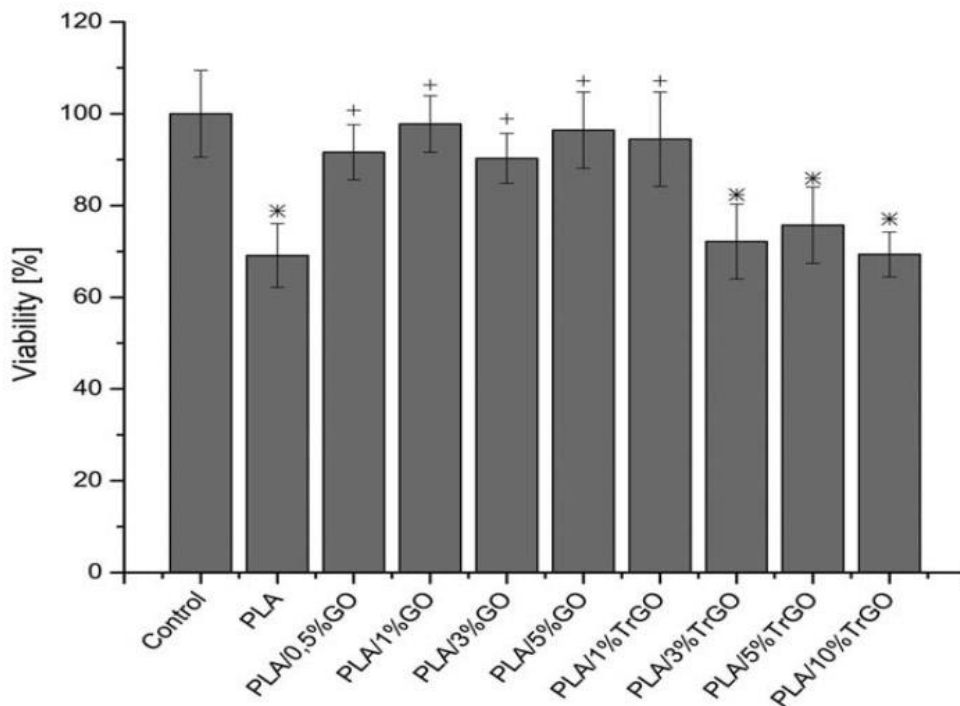
[Ir a:](#)

4. GO-Polymer Nanocomposites

Los GO pueden dispersarse bien en el agua debido a la presencia de grupos oxigenados. Así, los polímeros hidrofílicos, como el alcohol polivinílico (PVA) y PEG, pueden reaccionar con GO fácilmente en solución acuosa para formar nanocomposiciones de polímero [77]. La unión de hidrógeno entre los grupos oxigenados de GO y PVA puede prevenir la agregación de rellenos y promover interacciones de polímero-relleno. Al comparar con el polímero prístino, la resistencia mecánica de las nanocompositas GO/PVA aumenta notablemente debido al mecanismo eficaz de transferencia de estrés de la matriz de polímeros a rellenos de GO durante las pruebas de tracción [146]. Los polímeros biodegradables sintéticos como el ácido poliláctico (PLA), el poliglicólico (PGA) y el copolímero poliláctico-co-glucólico (PLGA) encuentran aplicaciones útiles en el campo biomédico, incluyendo la entrega de medicamentos y la ingeniería de tejidos óseos como suturas y andamios [147,148]. El PLA es un polímero hidrofóbico debido a la presencia de grupos laterales de la HC₃ en sus unidades repetidas. Los grupos de metileno hacen de la EPL con una velocidad de biodegradación lenta, baja resistencia mecánica y dureza. La mala resistencia mecánica del EPL dificulta su desarrollo para fabricar dispositivos de fijación interna para fracturar huesos en ortopedia. Los dispositivos de fijación biodegradable de polímero

tienen una clara ventaja sobre sus contrapartes metálicas porque los dispositivos pueden degradarse en cuerpo humano, por lo que la cirugía de revisión para extirparlos es innecesaria. Esto reduce en gran medida el dolor de pacientes que sufren fracturas óseas y el costo de la atención hospitalaria. En los últimos años, el número de pacientes que padecen enfermedades relacionadas con los huesos, como el cáncer y la fractura ósea, aumenta bruscamente debido a un aumento de la población de más edad y la contaminación ambiental a nivel mundial. Además, las actividades deportivas y recreativas también causan lesiones óseas en adultos. Es urgente desarrollar biomateriales avanzados y nanocompuestas de polímeros con buena biocompatibilidad para aplicaciones de ingeniería de tejidos óseos. En los últimos años, la atención se ha centrado en la mejora de la biocompatibilidad y la propiedad mecánica de poliésteres biodegradables que se refuerzan con GOs [80149,149]. El rendimiento mecánico de PLA se puede mejorar añadiendo bajo contenido de GO. Esto se debe a que GO con módulo elástico superior (207.6 y 23.4 GPa) es un refuerzo eficaz para que el PLA forme nanocomposites poliméricos. Además, GO también promueve la adhesión y proliferación de células óseas (osteoblasts), así como la diferenciación de células madre [150151,151,152]. A este respecto, las biocompositas GO/PLA con una buena biocompatibilidad y la resistencia a la tracción son biomateriales ideales para la ingeniería de tejidos óseos y aplicaciones de medicina regenerativa.

Arriagada et al. estudiaron los efectos de las adiciones GO (0,5o5 wt.%) y TRG (1o10 wt.%) sobre la biocompatibilidad de GO/PLA mezclado de GO/PLA y PLA/TRG nanocomposites [81]. La línea de celdas de osteosarcoma humano (Saos-2) fue cultivada en estos nanocompuestos. Al comparar con PLA prístino, la adición de sólo 0.5 wt.% GO a PLA mejora la viabilidad de Saos-2 de menos del 70% a cerca del 90% (Figura 20). La viabilidad celular se puede mejorar aún más añadiendo 1 wt.% GO. Esto se debe a que el GO hidrofílico puede mejorar la adsorción de proteínas y la posterior adhesión celular. En el caso de las nanocomosidades PLA/TRG, la viabilidad de Saos-2 sigue siendo casi la misma con la de PLA puro, con la excepción del nanocompuesto TRG PLA/1%. El TRG hidrofóbico no mejora la adhesión y la proliferación de Saos-2. Considerando las propiedades mecánicas, el módulo elástico de PLA aumenta de aproximadamente 2,1 GPa a 2,2 GPa y 2.4 GPa, respectivamente, añadiendo 1 wt.% y 2 wt.% GO, correspondiente a una mejora del 4,8% y 14,3% en la rigidez. Del mismo modo, Pinto et al. también encontraron que GO mejora la adherencia y proliferación de fibroblastos en las superficies de PLA/GO películas nanocompuestas [153]. Cabe destacar que las suspensiones de los GOs con bordes afilados pueden penetrar la membrana celular y alcanzar el citoplasma, lo que conduce a un mayor nivel de ROS y una eventual muerte celular, como se mencionó anteriormente. Sin embargo, la matriz polimérica de nanocomositas poliméricos puede sellar bordes afilados de GOs de manera efectiva, evitando así el daño de la membrana ¹⁵celular de la penetración GO [15]. Debido a que los GO están firmemente unidos a la matriz polimérica, por lo que no pueden moverse libremente para inducir daño de la membrana celular y apoptosis. A este respecto, los OSM con grandes superficies de superficie proporcionan lugares eficaces para la adhesión y proliferación de osteoblastos durante el cultivo de células.



[Gráfico 20](#)

Resultados MTT para PLA/GO y óxido de grafeno/ácido poliláctico (PLA/TRG) de nanocomposiciones cultivadas con Saos-2. * denota significa una significación estadísticamente entre los grupos experimentales y el control. - representa la significancia estadística entre los grupos experimentales y el EPL ($n = 6; p = 0,05$). Reproducido de [81] con permiso de Wiley.

Los hidrogeles convencionales que se sintetizaron de la utilización de cross-linker orgánico tienen muchos inconvenientes, incluyendo mala absorción, propiedades mecánicas y estructurales. Los hidrogeles son redes hidrofílicas tridimensionales de polímeros que son capaces de absorber una gran cantidad de agua o fluidos biológicos, mostrando así atractivas aplicaciones en ingeniería de tejidos y administración de fármacos [154]. Se sabe que el GO es un refuerzo eficaz para los sistemas hidrogel debido a sus abundantes grupos hidrofílicos en la superficie [155,156]. Así, GO puede establecer fuertes interacciones interfaciales con polímeros solubles [158,159,160,161,162] en agua (por ejemplo, PVA, PEG y PAA) mediante la unión química o de hidrógeno [157,158,159,160,161,162]. Por ejemplo, Zhang et al. prepararon hidrogel compuesto GO/PVA con una resistencia a la tracción mejorada de 3.48 MPa al añadir 0.8 wt% GO, siendo 132% de aumento que el hidrogel PVA limpio. Tal hidrogel nanocompuesto tuvo un efecto no tóxico en los osteoblastos [157]. La introducción de PEG podría conducir a un injerto más eficiente de moléculas de PVA en la superficie GO. Como tal, GO fue exfoliado y se dispersó uniformemente en la matriz PVA de hidrogeles GO/PVA-PEG [159]. Zhong et al. prepararon hidrogeles nanocompuestos GO/PAA con una elongación en el descanso del 2980% y resistencia a la tensión de 777 kPa, cuya red intervinida fue facilitada por el enlace físico de iones (Fe^{3+}). Muy recientemente, Jing et al. prepararon hidrogeles rGO/PAA de autocuración que tenían buena biocompatibilidad con fibroblastos y alta capacidad de estiramiento, mostrando así aplicación potencial para dispositivos de piel artificial].

[Ir a:](#)

5. Conclusiones

En esta revisión, resumimos y discutimos los procesos de síntesis de nanomateriales a base de grafeno, su biocompatibilidad y citotoxicidad. Además, también se abordó la citotoxicidad in vitro e in vivo de los nanomateriales a base de grafeno. El principal reto en la comercialización de grafeno hoy en día es producir grafeno de alta calidad a gran escala y a bajo costo. La calidad del grafeno juega un papel importante en el campo biomédico porque la presencia de impurezas puede tener un efecto adverso sobre las células de los mamíferos al inducir daño de la membrana celular y apoptosis. La comprensión

adecuada de las interacciones directas entre el grafeno nanoestructurado y las células de los mamíferos se puede obtener mediante el uso de grafeno puro. Aunque la exfoliación mecánica de copos de grafito puede producir grafeno puro, el rendimiento es muy bajo para fines de manipulación de células. El grafeno CVD es demasiado caro y su proceso de transferencia de papel de cobre o lámina de níquel al vidrio objetivo o sustrato SiO_2/Si es tedioso. Sin embargo, el digrafeno CVD de alta calidad proporciona información útil que relaciona sus interacciones con las células. La mayoría de los estudios de cultivo celular in vitro revelaron que el grafeno de la DV con una dimensión nanoescala es biocompatible con varias líneas celulares, especialmente aumentando la adherencia fibroblástica y promoviendo la diferenciación de los hMSC en las células óseas. Estos resultados son alentadores para posibles aplicaciones de grafeno en ortopedia. La preparación de las láminas de grafeno LPE requiere disolventes tóxicos y tensioactivos para la exfoliación de grafito. Esos reactivos químicos, especialmente los tensioactivos, son difíciles de eliminar de las hojas de grafeno final, por lo que el uso de LPE-graphene en el campo biomédico es limitado. Un ejemplo típico es que el LPE-graphene induce citotoxicidad en el cerebro y los tejidos renales de embriones de pollo [132].

Hasta ahora, los GO preparados por el proceso de Hummers modificados se utilizan ampliamente para investigar sus interacciones y respuestas con células de mamíferos in vitro e in vivo. Los resultados contradictorios se encuentran en la literatura sobre la biocompatibilidad y la raditoxicidad de los GOs y los rGOs bajo condiciones in vitro e in vivo. Esto está relacionado en parte con los investigadores que emplean varios tiempos de oxidación, diferentes tipos y diferentes concentraciones de oxidantes para la síntesis, produciendo GOs con estructura y reactividad, así como el nivel de impureza que difieren de un estudio a otro. La diversidad en las propiedades estructurales tiene un gran impacto en las interacciones célula-GO. Además, los diversos oxidantes químicos y los agentes reductores utilizados para preparar GOs y rGOS pueden generar impurezas metálicas y contaminaciones orgánicas, alterando así sus interacciones con células, tejidos y órganos, y resultando en daño celular y apoptosis. En particular, el agente reductor de hidrazina tóxica causa importantes destrucciones celulares en los hMSC a un contenido de rGO muy bajo (1,0 g/ml) [122], mientras que el Na_2S residual en rGO induce respuestas proinflamatorias graves en macrófagos [133]. Estos efectos adversos pueden explicar en parte las discrepancias en la presentación de resultados experimentales en la literatura. Los GOs y los rGO preparados de la ruta de síntesis verde son nanomateriales bastante prometedores para aplicaciones biomédicas, ya que pueden reducir la citotoxicidad en baja medida [105][105].

Se considera que la toxicidad de los GOs/rGOs puede minimizarse dispersándolos en polímeros para formar nanocomposiciones de polímeros. Como tal, los nanomateriales de grafeno se inmovilizan ya que están firmemente unidos a la matriz de polímeros de nanocomposiciones. Además, la matriz de polímero puede sellar los bordes afilados de los GOs/rGOs, impidiendo su penetración en citoplasma. Así, los nanofillers de grafeno con grandes áreas de superficie proporcionan sitios eficaces para la adhesión celular y la proliferación, especialmente para los osteoblastos (células óseas). Además, los grupos oxidados de GO pueden reducir la hidrofobicidad de la matriz polimérica, facilitando así la fijación de células y extendiéndose en la superficie del polímero [15,16]. Este enfoque abre nuevas oportunidades para aplicaciones biomédicas de nanomateriales de grafeno en ortopedia para fabricar dispositivos avanzados de fijación ósea, andamios e implantes. Se debe realizar una mayor evaluación e investigación de seguridad para garantizar que las nanocomposiciones de polímero sean biocompatibles con los tejidos humanos antes de las aplicaciones clínicas.

[Ir a:](#)

Aportaciones de autor

S.C.T. concibió y diseñó el tema y el contenido. C.L., Y.L. y S.C.T. escribieron el artículo.

[Ir a:](#)

Financiación

Los autores quieren agradecer a la Fundación Nacional de Ciencias Juveniles (China) por apoyar esta investigación en el marco de los proyectos con el No. 21703096 y No. 51407087.

[Ir a:](#)

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

[Ir a:](#)

Referencias

1. Chen X.J., Zhang X.Q., Liu Q., Zhang J., Zhou G. Nanotecnología: Método prometedor para la detección y diagnóstico oral del cáncer. *J. Nanobiotechnol.* 2018; 1616:52. doi: 10.1186/s12951-018-0378-6. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Roy P., Periasamy A.P., Lin C.Y., Her G.M., Chiu W.J., Li C.L., Shu C.L., Huang C.C., Liang C.T., Chang H.T. Parzas cuánticas de grafeno fotoluminiscentes para imágenes in vivo de células apoptóticas. *Nanoscale.* 2015; 7 :2504-2510. doi: 10.1039/C4NR07005D. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Ziabka M., Menaszek E., Tarasiuk J., Wronski S. Implante biocompatible de nanointerfazantes con nanopartículas de plata para otología. *Nanomateriales.* 2018; 88:764. doi: 10.3390/nano8100764. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Iijima S., Brabec C., Maiti A., Bernholc J. Flexibilidad estructural de nanotubos de carbono. *J. Chem. El físico.* 1998; 104104:2089-2092. doi: 10.1063/1.470966. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Krishnan A., Dujardin E., Ebbesen T.W., Yianilos P.N., Treacy M.M.J. Módulo joven de nanotubos de una sola pared. *El físico. Rev. B.* 1998; 58 :14013-14019. doi: 10.1103/PhysRevB.58.14013. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Liu X., Pichler T., Knupfer M., Golden M.S., Fink J., Kataura H., Achiba Y. Análisis detallado del diámetro medio y la distribución de los nanotubos de carbono de una sola pared de su respuesta óptica. *El físico. Rev. B.* 2002; 6666:045411. doi: 10.1103/PhysRevB.66.045411. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Geim A.K. Grafeno: Estado y perspectivas. *Ciencia.* 2009; 324 :1530-1534. doi: 10.1126/science.1158877. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Lee C., Wei X.D., Kysar J.W., Hone J. Medición de las propiedades elásticas y la fuerza intrínseca del grafeno monocapa. *Ciencia.* 2008; 321 :385-388. doi: 10.1126/science.1157996. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Nair R.R., Blake P., Grigorenko A.N., Novoselov K.S., Booth T.J., Stauber T., Peres N.M., Geim A.K. La estructura de multas define la transparencia visual del grafeno. *Ciencia.* 2008; 320320:1308. doi: 10.1126/science.1156965. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Alshehri R., Ilyas A.M., Hasan A., Arnaout A., Ahmed F., Memic A. nanotubos de carbono en aplicaciones biomédicas: Factores, mecanismos y remedios de toxicidad. *J. - Med. Chem.* 2016; 59 :8149-8167. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01770. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Tao L., Wang D., Jiang S., Liu Y., Xie Q., Tian H., Deng N., Wang X., Yang Y., Lin R. Técnicas de fabricación y aplicaciones de dispositivos electrónicos flexibles basados en grafeno. *J. Meadán.* 2016; 37 :041001. doi: 10.1088/1674-4926/37/4/041001. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Tjong S.C. *Avances en Ciencia Biomédica e Ingeniería.* Bentham; New York, NY, EE.UU.: 2009. [[Google Scholar](#)]
13. L.X., Tjong S.C. Aqueous grafeno-dispersó nanotubos de carbono como tintas para la producción escalable de películas conductivas transparentes con todo carbono. *J. Mater. Chem. C.* 2016; 4 :7043-751. doi: 10.1039/CTC01224H. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
14. L.X., Tjong S.C. Películas conductivas transparentes nanoestructuradas: Fabricación, caracterización y aplicaciones. *Mater. Sci. Eng. R-Rep.* 2016; 109109:1-101. doi: 10.1016/j.mser.2016.08.002. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
15. Liao C.Z., Wong H.M., Yeung K.W., Tjong S.C. El desarrollo, la fabricación y caracterización del material de los compuestos de polipropileno reforzados con nanofibra de carbono y rellenos híbridos de nanorod-hidroxiapatita. *Int. J. Nanomado.* 2014; 99:1299-1310. doi: 10.2147/IJN.S58332. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Chan K.W., Liao C.Z., Wong H.M., Yeung K.W., Tjong S.C. Preparación de compuestos de poliethereterketone con varillas de nanohidroxiapatita y nanofibras de carbono con alta resistencia, buena biocompatibilidad y excelente estabilidad térmica. *RSC Adv.* 2016; 6 :194117-19429. doi: 10.1039/C5RA22134J. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

17. Shareena T.P., McShan D., Dasmahapatra A.K., Tchounwou P.B. Revisión de nanomateriales a base de grafeno en aplicaciones biomédicas y riesgos en el medio ambiente y la salud. *Nano-Micro Lett.* 2018; 10 :53. doi: 10.1007/s40820-018-0206-4. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
18. Liu C., Wong H.M., Yeung K.W., Tjong S.C. Alas de fibra nanocomidas de ácido policáctico electrospunja con óxido de grafeno híbrido y refuerzos de nanohidroxiapatita con una biocompatibilidad mejorada. *Polímeros.* 2016; 88:287. doi: 10.3390/polim8080287. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
19. Kobayashi N., Izumi H., Morimoto Y. Revisión de los estudios de toxicidad de nanotubos de carbono. *J. Ocup. Salud.* 2017; 59 :394-407. doi: 10.1539/joh.17-0089-RA. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
20. Long J., Xiao Y., Liu L., Cao Y. Los efectos vasculares adversos de los nanotubos de carbono multiedular (MWCNTs) a las células endoteliales venosas humanas (HUVEC) in vitro: Papel de la longitud de los MWCNTs. *J. Nanobiotechnol.* 2017; 15 :80. doi: 10.1186/s12951-017-0318-x. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
21. Tsukahara T., Matsuda Y., Haniu H. El papel de la autofagia como mecanismo de toxicidad inducido por nanotubos de carbono multi paredes en las células pulmonares humanas. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 1616:40-48. doi: 10.3390/ijms16010040. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
22. Cui X., Wan B., Yang Y., Ren X., Guo L.H. Efectos de longitud en el proceso dinámico de absorción celular y exocitosis de nanotubos de carbono de una sola pared en las células macrófagos murinos. *Sci. Rep.* 2017; 77:1518. doi: 10.1038/s41598-017-01746-9. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
23. Shang S., Yang S.Y., Liu Z.M., Yang X. Daño oxidativo en el riñón y cerebro de los ratones inducidos por diferentes nanomateriales. *Frente. Biol.* 2015; 10 :91-96. doi: 10.1007/s11515-015-1345-3. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
24. Nakano H., Tetsuka H., Spencer M.J., Morishita T. Modificación química de los análogos de grafeno del grupo IV. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 2018; 1919:76-100. doi: 10.1080/14686996.2017.1422224. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
25. Novoselov K.S., Geim A.K., Morozov S.V., Jiang D., Zhang Y., Dubonos S.V., Grigorieva I.V., Firsov A.A. Efecto de campo eléctrico en películas de carbono atómicamente delgadas. *Ciencia.* 2004; 306 :666-669. doi: 10.1126/science.1102896. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
26. Li X., Colombo L., Ruoff R.S. Síntesis de las películas de grafeno sobre láminas de cobre por deposición química de vapor. *Adv. Mater.* 2015; 28 :6247-6252. doi: 10.1002/adma.201504760. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
27. Fang W., Hsu A.L., Song Y., Birdwell A.G., Amani M., Dubey M., Dresselhaus M.S., Palacios T., Kong J. Crecimiento asimétrico de grafeno bicapa en recintos de cobre utilizando deposición de vapor químico de baja presión. *ACS Nano.* 2014; 88:6491-6499. doi: 10.1021/nm5015177. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
28. Deokar G., Ávila J., Razado-Colambo I., Codron J.L., Boyaval C., Galopin E., Asensio M.C., Vignaud D. Hacia la alta calidad de crecimiento y transferencia de grafeno CVD. *Carbono.* 2015; 8989:82o92. doi: 10.1016/j.carbon.2015.03.017. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
29. Ciesielski A., Samor. Grafeno mediante la exfoliación de la fase líquida asistida por sonicación. *Chem. Soc. Rev.* 2014; 43 :381-398. doi: 10.1039/C3CS60217F. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
30. Oliveira A.E., Braga G.B., Tarley C.R., Pereira A.C. Sedujo térmicamente óxido de grafeno: Síntesis, estudios y caracterización. *J. Mater. Sci.* 2018; 53 :12005-12015. doi: 10.1007/s10853-018-2473-3. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
31. Skakalova V., Kotrusz P., Jergel M., Susi T., Mittelberger A., Vretenar V., Siffal P., Kotakoski J., Meyer J.C., Hulman M. oxidación química de grafito: Evolución de la estructura y propiedades. *J. El físico. Chem. C.* 2018; 122 :929-9-935. doi: 10.1021/acs.jpcc.7b10912. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
32. Feicht P., Eigler S. Defectos en óxido de grafeno como motivo estructural. *ChemNanoMat.* 2018; 4 :244-2.522. doi: 10.1002/cnma.201700357. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
33. Zhong Y.L., Tian Z., Simon G.P., Li D. Producción escalable de grafeno a través de química húmeda: Progreso y desafíos. *Mater. Hoy.* 2015; 1818:73-78. doi: 10.1016/j.mattod.2014.08.019. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
34. Lerf A., H.Y., Forster M., Klinowski J. Estructura de óxido de grafito revisitado. *J. El físico. Chem. B.* 1998; 102 :4477-4482. doi: 10.1021/jp9731821. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
35. Lu Y.F., Lo S.T., Lin J.C., Zhang W., Lu J.Y., Liu F.H., Tseng C.M., Lee Y.H., Liang C.T., Li L.J. Hojas de grafeno dopada por nitrógeno cultivadas por deposición química de vapor: Síntesis e influencia de impurezas de nitrógeno en el transporte portador. *ACS Nano.* 2013; 7 :6522-6532. doi: 10.1021/nm402102y. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

36. Algunas S., Kim J., Lee K., Kurkarni A., Yoon Y., Lee S., Kim T., Lee H. Transistores de efecto campo de gran tipo fósforo altamente ai-stable. *Adv. Mater.* 2012; 24 :5481-5486. doi: 10.1002/adma.201202255. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
37. Park H.Y., Yoon J.S., Jeon J., Kim J., Jo S.H., Yu H.Y., Lee S., Park J.H. Dope de grafeno n de grafeno controlable y de establo de aire en vidrio fosfilito para grafeno intrínseco. *Org. Electrón.* 2015; 2222:117-121. doi: 10.1016/j.orgel.2015.03.039. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
38. Shadjou N., Hasanzadeh M. Grafeno y sus derivados de nanoestructura para su uso en ingeniería de tejidos óseos: Avances recientes. *J. Mater. Res.* 2017; 32 :2860-2882. doi: 10.1002/jbm.a.35645. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
39. Shin Y.C., Song S., Hong S.W., Jeong S.J., Chrzanowski W., Lee J.C., Han D.W. Aplicaciones biomédicas multifacéticas de nanomateriales de grafeno funcionales a sustratos recubiertos, matrices estampadas y andalmes híbridos. *Nanomateriales.* 2017; 77:369. doi: 10.3390/nano7110369. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
40. Ghosal K., Sarkar K. Aplicaciones biomédicas de nanomateriales de grafeno y más allá. *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2018; 4 :2653-2703. doi: 10.1021/acbiomaterials.8b00376. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
41. Guazzo R., Gardin C., Bellin G., Sbricoli L., Ferroni L., Ludovichetti F.S., Piattelli A., Antoniac I., Bressan E., Zavan B. nanomateriales a base de grafeno para la ingeniería de tejidos en el campo dental. *Nanomateriales.* 2018; 8 :349. doi: 10.3390/nano8050349. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
42. Roy P., Periasamy A.P., Chuang C., Liou Y.R., Chen Y.F., Joly J., Liang C.T., Chang H.T. Planta de hoja de grafeno quantum puntos y aplicaciones para LEDs blancos. *Nueva J. Chem.* 2014; 38 :4946-4951. doi: 10.1039/C4NJ01185F. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
43. Lammel T., Boisseaux P., Fernandez-Cruz M.L., Navas J.M. Internaización y citotoxicidad de óxido de grafeno y nanoplaque de grafeno carboxilo en la línea celular hepatocelular hepatocelular Hep G2. *Parte. Fibre Toxicol.* 2013; 1010:27. doi: 10.1186/1743-8977-10-27. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
44. Bengtson S., Kling K., Madsen A.M., Noergaard A.W., Jacobsen N.R., Clausen P.A., Alonso B., Pesquera A., Zurutuza A., Ramos R., et al. No hay citotoxicidad ni genotoxicidad de grafeno y óxido de grafeno en células de FE1 pulmonar murina in vitro. En el medio ambiente. *Mol. Mutagen.* 2016; 57 :469o482. doi: 10.1002/em.22017. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
45. Liao K.H., Lin Y.S., Macosko C.W., Haynes C.L. Citotoxicidad del óxido de grafeno y grafeno en eritrocitos humanos y fibroblastos de la piel. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2011; 3 :2607-2615. doi: 10.1021/am200428v. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
46. Chang Y., Yang S.T., Liu J.H., Dong E., Wang Y., Cao A., Liu H., Wang H. Evaluación in vitro de la toxicidad del óxido de grafeno en las células A5. - *Toxicol. - Deja.* 2001; 200 :201-10. doi: 10.1016/j.toxlet.2010.11.016. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
47. Wang K., Ruan J., Song H., Zhang J., Wo Y., Guo S., Cui D. Biocompatibilidad del óxido de grafeno. *Nanoscale Res. - Deja.* 2011; 66:8. doi: 10.1007/s11671-010-9751-6. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
48. Yang K., Wan J., Zhang S., Zhang Y., Lee S., Liu Z. farmacocinética in vivo, biodistribución a largo plazo y toxicología de grafeno pEGilado en ratones. *ACS Nano.* 2010; 5 :516-522. doi: 10.1021/nl1024303. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
49. Wang X.Y., Narita A., Mullen K. Síntesis de precisión versus la fabricación a granel de grafenos. *Nat. Rev. Chem.* 2017; 22:0100. doi: 10.1038/s41570-017-0100. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
50. Badami D.V. Estudios de rayos X de grafito formado por carburo de silicio en descomposición. *Carbono.* 1965; 3 :53-57. doi: 10.1016/0008-6223(65)90027-8. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
51. Norimatsu W., Kusunoki M. Grafeno epitaxial en SiC 10001o: Avances y perspectivas. *El físico. Chem. Chem. El físico.* 2014; 16 :3501-3511. doi: 10.1039/c3cp54523g. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
52. Reina A., Jia X., Ho J., Nezich D., Son H., Bulovic D., Dreselhaus M.S., Kong J. Gran área, películas de grafeno de pocas capas sobre sustratos arbitrarios por deposición de vapor químico. *Nano Lett.* 2009; 99:30-35. doi: 10.1021/nl801827v. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
53. Li X., Cai W., An J., Kim S., Nah J., Yang D., Piner R., Veramakanni A., Jung I., Tutuc E., et al. Sinteo de gran superficie de películas de grafeno de alta calidad y uniforme sobre láminas de cobre. *Ciencia.* 2009; 324 :1312-1314. doi: 10.1126/science.1171245. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
54. Li X., Cai W., Colombo L., Ruoff R.S. Evolución del crecimiento del grafeno en Ni y Cu mediante el etiquetado de isótopos de carbono. *Nano Lett.* 2009; 99:4268-4272. doi: 10.1021/nl902515k. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

55. Li X., Magnuson C.W., Venugopal A., An J., Suk J.W., Han B., Borysiak M., Cai W., Veramakanni A., Zhu Y., et al. Películas de grafeno con gran tamaño de dominio por un proceso de deposición de vapor químico de dos pasos. *Nano Lett.* 2010; 10 :4328-4334. doi: 10.1021/nl101629g. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
56. Xu X., Zhang Z., Dong J., Yi D., Niu J., Wu M., Lin L., Yin R., Li M., Zhou J., et al. Crecimiento epitaxial ultrarrápido de un solo crillito de tamaño de metro en la láfca industrial Cu. *Sci. Bull.* 2017; 62 :1074-1080. doi: 10.1016/j.scib.2017.07.005. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
57. Deng B., Liu Z., Peng H. Hacia la producción en masa de películas de grafeno CVD. *Adv. Mater.* 2018 doi: 10.1002/adma.201800996. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
58. Li X., Magnuson C.W., Venugopal A., Tromp R.M., Hannon J.B., Vogel E.M., Colombo L., Ruoff R.S. Grafeno de gran área cristales unicelco cultivados por la deposición de vapor químico de baja presión de metano sobre cobre. *J. - Sí. Chem. Soc.* 2011; 133 :2816-2819. doi: 10.1021/ja109793s. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
59. Guerrero-Contreras J., Caballero-Briones F. Polvos de óxido de grafeno con diferente grado de oxidación, preparados por variaciones de síntesis del método Hummers. *Mater. Chem. El físico.* 2015; 153153:209-220. doi: 10.1016/j.matchemphys.2015.01.005. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
60. Marcano D.C., Kosynkin D.V., Berlin J.M., Sinitskii A., Sun Z., Slesarev A., Alemany L.B., Lu W., Tour J.M. Reconción mejorada del óxido de grafeno. *ACS Nano.* 2010; 4 :4806-4814. doi: 10.1021/nm1006368. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
61. Peng L., Xu Z., Liu Z., Wei Y., Sun H., Li Z., Zha X., Gao C. Un enfoque verde basado en hierro para la producción de 1-h de óxido de grafeno de una sola capa. *Nat. - Commun.* 2015; 66:5716. doi: 10.1038/ncomms6716. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
62. Paulista Neto A.J., Fileti E.E. Elucidando el carácter anfífilo del óxido de grafeno. *El físico. Chem. Chem. El físico.* 2018; 20 :9507-9515. doi: 10.1039/C8CP00797G. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
63. Paredes J.I., Villar-Rodil S., Martínez-Alonso A., Tascon J.M. Dispersiones de óxido de grafeno en disolventes orgánicos. *Langmuir.* 2008; 2424:10560-10564. doi: 10.1021/la801744a. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
64. Gunter T.E., Gavin C.E., Gunter K.K. El caso de la interacción de manganeso con mitocondrias. *Neurotoxicología.* 2009; 3030:727-739 doi: 10.1016/j.neuro.2009.05.003. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
65. Xu C., Shi X., Ji A., Shi L., Zhou C., Cui Y. Fábrica y características de óxido de grafeno reducido producido con diferentes reductores verdes. *PLoS ONE.* 2015; 10 :e0144842. doi: 10.1371/journal.pone.0144842. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
66. Park S., An J., Potts J.R., Velamakanni A., Murali S., Ruoff R.S. Hidrozina-reducción de grafito- y óxido de grafeno. *Carbono.* 2011; 49 ,3019-3023. doi: 10.1016/j.carbon.2011.02.071. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
67. McAllister M.J., Li J.L., Adamson D.H., Schniepp H.C., Abdala A.A., Liu J., Herrera-Alonso M., Milius D.L., Car R., Prud'homme R.K., et al. Hoja única funcionalizado grafeno por oxidación y expansión térmica de grafito. *Chem. Mater.* 2007; 19 :4396-4404. doi: 10.1021/cm0630800. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
68. Chen J.H., Jang C., Xiao S., Ishigami M., Fuhrer M.S. Límites de rendimiento intrínseco y extrínseco de los dispositivos de grafeno en SiO₂. *Nat. Nanotechnol.* 2008; 33:206209. doi: 10.1038/nnano.2008.58. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
69. El L., Tjong S.C. La síntesis de grafeno reducido de plata de óxido de grafeno reducido como material de llenado híbrido para compuestos de polímeros de conducción eléctrica. *RSC Adv.* 2015; 5 :15070-15076. doi: 10.1039/C5RA00257E. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
70. Tjong S.C., Meng Y.Z. Preparación y caracterización de nanocomposites de polietileno/vermiculita derretido. *J. Polim. Sci. B Polym. El físico.* 2003; 4141:1476-1484. doi: 10.1002/polb.10497. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
71. Meng Y.Z., Tjong S.C., Hay A.S., Wang S.J. Síntesis y conductividades de protones de ácido fosfónico que contiene éters de poli- (carrelata). *J. Polim. Sci. A Polym. Chem.* 2001; 39 :3218-3226. doi: 10.1002/pola.1304. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
72. Meng Y.Z., Hay A.S., Jian X.G., Tjong S.C. Síntesis y propiedades de poli (sulfona de éter de yerno) que contiene la fracción de ftalazinona. *J. Appl. Polim. Sci.* 1998; 6868:137-143. doi: 10.1002/(SICI)1097-4628(19980404)68:1-137::AID-APP15-3,0.CO;2-Y. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
73. Tjong S.C., Meng Y.Z. Morfología y características mecánicas de compuestos de poliamida cristalina compatibilizado de compuestos de polímero cristalino de 6 líquidos. *Polímero.* 1997; 38 :4609-4615. doi: 10.1016/S0032-3861(96)01082-8. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

74. Meng Y.Z., Tjong S.C. Reología y morfología de las mezclas de poliamida compatibilizada 6 que contienen copoliestros cristalinos líquidos. *Polímero*. 1998; 39:99-107. doi: 10.1016/S0032-3861(97)00218-8. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
75. Li R.K.Y., Liang J.Z., Tjong S.C. Morfología y propiedades mecánicas dinámicas de cuentas de vidrio llenan compuestos de polietileno de baja densidad. *J. Mater. Proceso. Technol.* 1998; 79:59-65. doi: 10.1016/S0924-0136(97)00319-1. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
76. Bonner M., Ward I.M., McGregor W.J., Tanner K.E., Bonfield W. Hydroxyapatita/compuesto polipropileno: Un nuevo material sustitutivo óseo. *J. Mater. Sci. - Deja.* 2001; 20:2049-2051. doi: 10.1023/A:1013594125371. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
77. Salavagione H.J., Martenez G., Gómez M.A. Síntesis de poli(alcohol de vinilo)/óxido de grafito reducido nanocomposites con propiedades térmicas y eléctricas mejoradas. *J. Mater. Chem.* 2009; 19:5027-5032. doi: 10.1039/b904232f. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
78. Suk J.W., Piner R.D., An J., Ruoff R.S. Propiedades mecánicas de óxido de grafeno monocapa. *ACS Nano*. 2010; 4:6557-6564. doi: 10.1021/mn101781v. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
79. Li W., Xu Z., Chen L., Shan M., Tian X., Yang C., Lv H., Qian X. Un método fácil para producir óxido de grafeno-g-poly(l-láctico ácido) como un refuerzo prometedor para los nanocompositos PLLA. *Chem. Eng. J.* 2014; 237:291-299. doi: 10.1016/j.cej.2013.10.034. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
80. Bayer I.S. Propiedades termomecánicas de compuestos de ácido-grafeno poliláctico: Una revisión de vanguardia para aplicaciones biomédicas. *Materiales*. 2017; 10:10:748. doi: 10.3390/ma10070748. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
81. Arriagada P., Palza H., Palma P., Flores M., Caviedes P. compuestos de ácido poliláctico a partir de partículas de óxido de grafeno con un comportamiento antibacteriano mejorada por estímulos eléctricos y biocompatibilidad. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2018; 106:1051-1060. doi: 10.1002/jbm.a.36307. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
82. Bernabo N., Fontana A., Sanchez M.R., Valbonetti L., Capacchietti G., Zappacosta R., Greco L., Marchisio M., Lanuti P., Ercolino E., et al. El óxido de grafeno afecta el resultado de la fecundación in vitro interactuando con la membrana de espermatozósela en un modelo animal. *Carbono*. 2018; 129:428-437. doi: 10.1016/j.carbon.2017.12.042. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
83. Zhang L., Xu B., Wang X. Extracción de colesterol de la membrana celular mediante nanohomas de grafeno: Estudio computacional. *J. El físico. Chem. B.* 2016; 120:957-964. doi: 10.1021/acs.jpcc.5b10330. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
84. Duan G., Zhang Y.Z., Luan B., Weber J.K., Zhou R.W., Yang Z., Zhao L., Xu J., Luo J., Zhou R. Formación de poros inducidos con grafeno en las membranas celulares. *Sci. Rep.* 2017; 7:42767. doi: 10.1038/srep42767. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
85. Li S.H., Stein A.J., Kruger A., Leblanc R.M. Los grupos de cabeza de los lípidos rigen la interacción y la orientación entre el óxido de grafeno y los lípidos. *J. El físico. Chem. B.* 2013; 117:16150-16158. doi: 10.1021/jp405991q. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
86. Hu X., Lei H., Zhang X., Zhang Y. Fuerte interacción hidrofóbica entre óxido de grafeno y bicapas lipídicas soportadas reveladas por AFM. *Microsc. Res. Tech.* 2016; 79:721-726. doi: 10.1002/jemt.22690. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
87. Li R., Guiney L.M., Chang C.H., Mansukani N.D., Ji Z., Wang X., Liao Y.P., Jiang W., Sun B., Hersam M.C., et al. La oxidación superficial del óxido de grafeno determina el daño de la membrana, la peroxidación lipídica y la citotoxicidad en macrófagos en un modelo de toxicidad pulmonar. *ACS Nano*. 2018; 12:1390-1402. doi: 10.1021/acsnano.7b07737. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
88. Pelin M., Fusco L., Martin C., Sosa S., Frontinann-Rubio J., Gonzalez-Dominguez J.M., Duran-Prado M., Vazquez E., Prato M., Tubaro A. El grafeno y el óxido de grafeno inducen la producción de ROS en queratinocitos de piel de HaCaT humanos: El papel de la xantina oxidasa y la NADH deshidrogenasa. *Nanoscale*. 2018; 10:11820. doi: 10.1039/C8NR02933D. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
89. Zhang Y.B., Ali S.F., Dervishi E., Xu Y., Li Z., Casciano D., Biri A.S. Efectos de citotoxicidad del grafeno y los nanotubos de carbono de una sola pared en células PC12 derivadas de feocromocitoma neural. *ACS Nano*. 2010; 4:3181-3186. doi: 10.1021/nn1007176. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
90. Nayak T.R., Andersen H., Makam V.S., Khaw C., Bae S., Xu X., Ee P.L., Ahn J.H., Hong B.H., Pastorin G., et al. Grafeno para diferenciación osteogénica controlada y acelerada de las células madre mesenquimal humanas. *ACS Nano*. 2011; 5:4670-4678. doi: 10.1021/nn200500h. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
91. Kim T., Kahng Y.H., Lee T., Lee K., Kim D.H. Las películas de grafeno muestran el apego de células estables y la biocompatibilidad con las células cardíacas primarias electrógenas. *Mol. Células*. 2013; 36:577-582. doi: 10.1007/s10059-013-0277-5. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

92. Park S.Y., Park J., Sim S.H., Sung M.G., Kim K.S., Hong B.H., Hong S. Diferenciación mejorada de las células madre neuronales humanas en neuronas en grafeno. *Adv. Mater.* 2011; 23 :H263-H267. doi: 10.1002/adma.201101503. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
93. Carisey A., Ballestrem C. Vinculin, una proteína adaptadora en el control de la señalización de adhesión celular. *Int. J. Biol de células.* 2011; 9090:157-163. doi: 10.1016/j.ejcb.2010.06.007. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
94. Kim J., Choi K.S., Kim Y., Lim K.T., Park Y., Kim D.H., Choung P.H., Cho C.S., Kim S.Y., Choung Y.H., et al. Efectos bioactivos del sustrato de cultivo celular de óxido de grafeno sobre la estructura y función de las células madre derivadas de la adiposa humana. *J. Biomed. Mater. Res. Parte A.* 2013; 101 :3520-3530. doi: 10.1002/jbm.a.34659. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
95. Lasocka I., Szulc-Dąbrowska L., Skibniewskic M., Skibniewska E., Strupinsk W., Paternak I., Kmiec H., Kowalczyk P. Biocompatibilidad de la monocapa de grafeno prístina: Andamio para fibroblastos. - *Toxicol. En Vitro.* 2018; 48 :276-285. doi: 10.1016/j.tiv.2018.01.028. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
96. Rastogi S.K., Raghavan G., Yang G., Cohen-Karni T. Efecto del grafeno en la viabilidad y el estrés de células no neuronales y neuronales. *Nano Lett.* 2017; 1717:3297-3301. doi: 10.1021/acs.nanolett.7b01215. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
97. Tjong S.C., Yeager E. ESCA y SIMS estudian la película pasiva sobre hierro. *J. Electrochem. Soc.* 1981; 128 :2251-2254. doi: 10.1149/1.2127229. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
98. Tjong S.C., Hoffman R.W., Yeager E.B. Estudios electrones e iónicos de la película pasiva sobre aleaciones de hierro-cromo. *J. Electrochem. Soc.* 1982; 129 :1662-1668. doi: 10.1149/1.2124232. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
99. Liu Y., Chen T., Du F., Gu M., Zhang P., Zhang X., Liu J., Lv L., Xiong C., Zhou Y. El grafeno de una sola capa mejora la diferenciación osteogénica de las células madre mesenquimales humanas in vitro e in vivo. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2016; 12 :1270-1284. doi: 10.1166/jbn.2016.2254. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
100. Gu M., L. L., Du F., Niu T., Chen T., Xia D., Wang S., Zhao X., Liu J., Liu Y., et al. Efectos del tratamiento térmico sobre la resistencia a la adherencia y la actividad osteoinductiva de las hojas de grafeno de una sola capa sobre sustratos de titanio. *Sci. Rep.* 2018; 88:8141. doi: 10.1038/s41598-018-26551-w. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
101. Wong C.A., Sofer Z., Kubesovac M., Kucera J., Matejkova S., Pumera M. Las rutas sintéticas contaminan los materiales de grafeno con todo un espectro de elementos metálicos no previstos. *Proc. Nat. Acad. Sci. UU.* 2014; 111 :13774-13779. doi: 10.1073/pnas.1413389111. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
102. Smith M.R., Fernandes J., Go Y. Redox dinámica de manganeso como un interruptor de muerte-vida mitocondrial. *Biochem. Biofóimas. Res. - Commun.* 2017; 482 :388-398. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.126. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
103. Zhang L., Sang H., Liu Y., Li J. El manganeso activa la apoptosis dependiente de la caspasa-9 en las células epiteliales bronquiales humanas. *Hum. Expe. - Toxicol.* 2013; 32 :1155-1163. doi: 10.1177/09603271171127272. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
104. Valentini F., Mari E., Zicari A., Calcaterra A., Talamo M., Scioli M.G., Orlandi A., Mardente S. nanoláminas de óxido de grafeno metálico (GO) y nanotubos de carbono de pared de un poco virgen (p-SWCNTs) investigación de biocompatibilidad: Estudio comparativo en diferentes líneas celulares humanas. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 1919:1316. doi: 10.3390/ijms19051316. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
105. Dasgupta A., Sarkar J., Ghosh M., Bhattacharya A., Mukherjee A., Chattopadhyay D., Acharya K. Conversión verde de óxido de grafeno en nanoláminas de grafeno y su estudio de bioseguridad. *PLoS ONE.* 2018; 12 :e0171607. doi: 10.1371/journal.pone.0171607. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
106. Bhattacharya G., Sas S., Wadhwa S., Mathur A., McLaughlin J., Roy S.S. Aloe vera asistió a la síntesis verde fácil de óxido de grafeno reducido para aplicaciones de extracción de electroquímicos y de tinte. *RSC Adv.* 2017; 77:26680. doi: 10.1039/C7RA028H. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
107. Zhang B., Wei P., Zhou Z., Wei T. Interacciones de grafeno con células de mamíferos: Mecanismos moleculares y perspicacia biomédica. *Adv. Drogas Deliv. Rev.* 2016; 105 :145-162. doi: 10.1016/j.addr.2016.08.009. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
108. Kenry Comprender la hemotoxicidad de los nanomateriales de grafeno a través de sus interacciones con proteínas y células sanguíneas. *J. Mater. Res.* 2018; 33 :44-57. doi: 10.1557/jmr.2017.388. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
109. Russier J., Treossi E., Scarsi A., Perrozzi F., Dumortier H., Ottaviano L., Meneghetti M., Palermo V., Bianco A. Evidenciando el efecto de máscara del óxido de grafeno: Estudio comparativo sobre células

- fagocíticas humanas y murinas primarias. *Nanoscale*. 2013; 5 :11234-11247. doi: 10.1039/c3nr03543c. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
110. Ma J., Liu R., Wang X., Liu Q., Chen Y., Valle R.P., Zuo Y., Xia T., Liu X. Función crucial del tamaño lateral del óxido de grafeno en la activación de macrófagos y el estímulo de las respuestas proinflamatorias en células y animales. *ACS Nano*. 2015; 9 :10498-10515. doi: 10.1021/acs.nano.5b04751. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
111. Mendes R.G., Koch B., Bachmatiuk A., Ma X., Sánchez S., Damm C., Schmidt O.G., Gemming T., Eckertaj J., Rummeli M.H. Evaluación de tamaño dependiente de la citotoxicidad y la absorción de óxido de nanografeno. *J. Matter Chem*. 2015; 3 :2522-2529. doi: 10.1039/C5TB00180C. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
112. Papi M., Lauriola M.C., Palmieri V., Ciasca G., Maulucci G., Spirito M.D. La corona de proteína de plasma reduce la actividad hemolítica de óxido de grafeno nano y microcopos. *RSC Adv*. 2015; 5:81638. doi: 10.1039/C5RA15083C. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
113. Wu W., Yan L., Wu Q., Li Y., Li Q., Chen S., Yang Y., Gu Z., Xu H., Yin Z.Q. Evaluación de la toxicidad de la exposición al óxido de grafeno al ojo. *Nanotoxicología*. 2016; 10 :1329-1340. doi: 10.1080/17435390.2016.1210692. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
114. Wojtoniszak M., Chen X., Kalenczuk R.J., Wajda J., Lapczuk J., Kurzewski M., Drozdik M., Chu P., Borowiak-Palen E. Síntesis, dispersión y citocompatibilidad del óxido de grafeno y óxido de grafeno reducido. *Colloides Surf. B Biointerfaces*. 2012; 89 :79-85. doi: 10.1016/j.colsurfb.2011.08.026. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
115. Du L., Wu S., Li Y., Zhao X., Ju X., Wang Y. Citotoxicidad del óxido de grafeno EGilado en las células del linfoma. *Biomed. Mater. Eng*. 2014; 24 :2135-2141. doi: 10.3233/BME-141024. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
116. Matesanz M.C., Vila M., Feito M.J., Linares J., Goncalves G., Vallet-Regi M., Marques P.A., Portoles M.T. Los efectos de las nanoláminas de óxido de grafeno localizadas en filamentos de efecto F en las alteraciones del ciclo celular. *Biomateriales*. 2013; 34 :1562-1569. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.11.001. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
117. Mendonca M.C., Soares E.S., de Jesús M.B., Ceragioli H.J., Batista A.D., Nyul-Toth A., Molnar J., Wilhelm I., Junior M.B., Krizbai I., et al. PEGilación de óxido de grafeno reducido induce toxicidad en células de la barrera hematobranca: Estudio in vitro e in vivo. *Mol. Pharm*. 2016; 13 :3913-3924. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.6b00696. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
118. Luo N., Weber J.K., Wang S., Luan B., Yue H., Xi X., Du J., Yang Z., Wei W., Zhou R., et al. El óxido de grafeno chunetado provoca fuertes respuestas inmunológicas a pesar de la pasivación de la superficie. *Nat. - Commun*. 2017; 88:14537. doi: 10.1038/ncomms14537. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
119. Xu M., Zhu J., Wang F., Xiong Y., Wu Y., Wang Q., Weng J., Zhang Z., Chen W., Liu S. Mejora de la biocompatibilidad in vitro e in vivo del óxido de grafeno mediante la modificación de la superficie: La funcionalización de ácido policrílico es superior a la PEGilación. *ACS Nano*. 2016; 10 :3267-3281. doi: 10.1021/acnano.6b00539. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
120. Syama S., Aby C.P., Maekava T., Sakthikumar D., Mohanan P.V. Compatibilidad de nano-bio de óxido de grafeno reducido PEGilado en células madre mesenquimales. *Materiales 2D*. 2017; 4 :25066. doi: 10.1088/2053-1583/aa65c2. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
121. Reshma S.C., Syama S., Moharan P.V. Nano-biointeracción de óxido de grafeno EGilado y desnudo redujo el óxido de grafeno en las células epiteliales de alveolar pulmonar: Estudio comparativo in vitro. *Colloides Surf. B Biointerfaces*. 2016; 140 :104-116. doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.12.030. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
122. Akhavan O., Akhavan G.E. Dependiente del tamaño de la genotoxicidad de los nanoplaquetas de grafeno en células madre humanas. *Biomateriales*. 2012; 33 :8017-8025. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.040. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
123. Wu Y., Wang F., Wang S., Ma J., Xu M., Gao M., Liu R., Chen W., Liu S. La reducción del óxido de grafeno altera su citocompatibilidad hacia macrófagos primarios e inmortalizados. *Nanoscale*. 2018; 10 :14637-14650. doi: 10.1039/C8NR02798F. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
124. Gurunathan S., Han J.W., Eppakayala V., Kim J.H. Biocompatibilidad de óxido de grafeno microbiallymente reducido en células de fibroblastos embrionarias de ratón primario. *Colloides Surf. B Biointerfaces*. 2013; 105 :58-66. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.12.036. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
125. Mittal S., Kumar V., Dhiman N., Clauhan L.K., Pasricha R., Pandey A.K. Propiedades fisicoquímicas basadas en toxicidad diferencial de óxido de grafeno/óxido de grafeno reducido en células pulmonares humanas mediadas por estrés oxidativo. *Sci. Rep*. 2016; 6 :39548. doi: 10.1038/srep39548. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

126. Das S., Singh S., Singh V., Joung D., Dowding J.M., Reid D., Anderson J., Zhai L., Khondaker S.I., Self W.T., et al. Densidad de grupo funcional oxígeno en el óxido de grafeno: Su efecto sobre la toxicidad celular. *Parte. Parte. Syst. Charact.* 2013; 30 :148-157. doi: 10.1002/ppsc.201200066. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
127. Sasidharan A., Panchakarla L.S., Chandran P., Menon D., Nair S., Rao C.N.R., Koyakutty M. Interacciones diferenciales de nanobio y efectos de toxicidad del grafeno prístino versus funcionalizado. *Nanoscale.* 2011; 3 :2461-2464. doi: 10.1039/c1nr10172b. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
128. Yang K., Gong H., Shi X., Wan J., Zhang Y., Liu Z. Biodistribución in vivo y toxicología del óxido de nanografeno funcionalizado en ratones después de la administración oral e intraperitoneal. *Biomateriales.* 2013; 34 :2787-2795. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.01.001. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
129. Ali-Boucetta H., Bitounis D., Raveendran-Nair R., Servant A., Van den Bossche J., Kostarelo K. Las dispersiones de óxido de grafeno purificado carecen de citotoxicidad in vitro y de patogenicidad in vivo. *Adv. Salud Mater.* 2013; 22:433-441. doi: 10.1002/adhm.201200248. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
130. Yan L., Wang Y., Xu X., Zeng C., Hou J., Lin M., Xu J., Sun F., Huang X., Dai L., et al. Puede el óxido de grafeno causar daño a la vista? *Chem. Res. - Toxicol.* 2012; 25 :1265-1270. doi: 10.1021/tx300129f. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
131. Singh S., Singh M.K., Kulkarni P. P., Sonkar V.K., Gracio J.J., Dah D. Grafeno modificado por Amina: Resterna más segura de protección contra el grafeno para aplicaciones biomédicas modificadas en Amina: protector de la mosca alternativa más segura al óxido de grafeno. *ACS Nano.* 2012; 6 :2731-2740. doi: 10.1021/nn300172t. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
132. Saworz E., Jaworski S., Kutwin M., Hatowy A., Grodzik M., Kurantowicz N., Strojny B., Lipinska L., Chwalibog A. Toxicidad del grafeno prístino en experimentos en un modelo de embrión de pollo. *Int. J. Nanomado.* 2014; 99:3913-3922. doi: 10.2147/IJN.S65633. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
133. Li B., Yang J., Huang Q., Zhang Y., Peng C., Zhang Y., He Y., Shi J., Li W., Hu J., et al. Biodistribución y toxicidad pulmonar de óxido de grafeno intratraquealmente inculcados en ratones. *NPG Asia Mater.* 2013; 5 :e44. doi: 10.1038/am.2013.7. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
134. Zhang X., Yin J., Peng C., Hu W., Zhu Z., Li W., Fan C., Huang Q. Estudios de distribución y biocompatibilidad del óxido de grafeno en ratones después de la administración intravenosa. *Carbono.* 2011; 49 :986-995. doi: 10.1016/j.carbon.2010.11.005. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
135. Amrollahi-Sharifabadi M., Koochi M.K., Hablolvarid M.H., Hassan J., Seifalian A.M. Evaluación in vivo toxicológica de nanoplaquetas de óxido de grafeno para aplicación clínica. *Int. J. Nanomado.* 2018; 13 :4757-4769. doi: 10.2147/IJN.S168731. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
136. Syama S., Paul W., Mohanan P.V. espectroscopia Raman para la detección de la distribución de órganos y la limpieza de óxido de grafeno reducido y consecuencias biológicas reducidas. *Biomateriales.* 2017; 131131:121-130. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.03.043. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
137. Mendonca M.C., Soares E.S., de Jesus M.B., Ceragioli H.J., Ferreira M.S., Catharino R.R., Cruz-Hofling M.A. El óxido de grafeno reducido induce la apertura transitoria de la barrera hebrain de la sangre: Estudio in vivo. *J. Nanobiotechnol.* 2015; 13 :78. doi: 10.1186/s12951-015-0143-z. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
138. Kim J., Gurunathan S. Síntesis, toxicidad, biocompatibilidad y aplicaciones biomédicas de materiales relacionados con el grafeno y el grafeno. *Int. J. Nanomado.* 2016; 11 ,1927. de 1945. doi: 10.2147/IJN.S105264. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
139. Ou L., Song B., Lianh H., Liu J., Feng X., Deng B., Sun T., Shao L. Toxicidad de nanopartículas de grafeno-familia: Revisión general de los orígenes y mecanismos. *Parte. Fibre Toxicol.* 2016; 13 :57. doi: 10.1186/s12989-016-0168-y. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
140. Ruggeri F.S., Marcott C., Dinarelli S., Longo G., Girasole M., Dietler G., Knowles T.P. Identificación del estrés oxidativo en los glóbulos rojos con resolución química de nanoescala por nanoespectroscopia infrarroja. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 1919:2582. doi: 10.3390/ijms19092582. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
141. Kim J.M., Kim H.G., Son C.G. Perfil específico de tejido de transcriptoma asociado al estrés oxidativo en un modelo de ratón saludable. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19 :3174. doi: 10.3390/ijms19103174. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
142. Pavlakou P., Dounousi E., Roumeliotis S., Eleftheriadis T., Liakopoulos V. Estresamiento oxidativo y el riñón en el entorno espacial. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 1919:3176. doi: 10.3390/ijms19103176. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
143. Tsai Y.R., Chang C.F., Lai J.H., Wu J.C., Chen Y.H., Kang S.J., Hoffer B.J., Tweedie D., Luo W., Greig N.H., et al. Melioratos de pomalidomida H₂ O₂ -lesión por estrés oxidativo inducido y muerte

celular en cultivos neuronales corticales primarios de ratas induciendo efectos antioxidantes y anti-apoptosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19 :3252. doi: 10.3390/ijms19103252. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

144. Frati A., Cerretani D., Fiaschi A.I., Frati P., Gatto V., Russa R.L., Pesce A., Pinchi E., Santurro A., Fraschetti F., et al. Diffuse axonal y Estrés oxidativo: Una revisión completa. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18 :2600. doi: 10.3390/ijms18122600. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

145. Van Rijt L.S., Utsch L., Lutter R., van Re R. Estresinos oxidativos: Promotor de la sensibilización alérgica a los alérgenos de la proteasa? *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 1818:1112. doi: 10.3390/ijms18061112. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

146. Li J., Young R.J., Kinloch I.A. Transferencia de estrés interfacial en nanocomisaciones de óxido de grafeno. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2013; 5 :456-463. doi: 10.1021/am302581e. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

147. Gentile P., Chiono V., Carmagnola I., Hatton P.V. Panorama general de biomateriales basados en ácido poliláctico (copolic) (PLGA) para la ingeniería de tejidos óseos. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15 :3640-3659. doi: 10.3390/ijms15033640. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

148. Wang J., Wang L., Zhou Z., Lai H., Xu P., Liao L., Wei J. Membranas de polímero biodegradables aplicadas en regeneración guiada de hueso/edición de tejidos: Revisión A. *Polímeros.* 2016; 88:115. doi: 10.3390/polim8040115. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

149. Ege D., Kamali A.R., Boccaccini A.R. óxido de grafeno/biomateriales a base de polímero. *Adv. Eng. Mater.* 2017; 19 :1700627. doi: 10.1002/adem.201700627. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

150. Halim A., Luo Q., Ju Y., Song G. Una mini revisión se centró en las aplicaciones recientes del óxido de grafeno en el crecimiento y diferenciación de las células madre. *Nanomateriales.* 2018; 88:736. doi: 10.3390/nano8090736. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

151. Kenry, Lee W.C., Loh K.P., Lim C.T. Cuando las células madre se encuentran con el grafeno: Oportunidades y desafíos en la medicina regenerativa. *Biomateriales.* 2018; 155 :236-250. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.004. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

152. Palmieri V., Barba M., Pietro L.D., Conti C., Spirito M.D., Lattanzi W., Pappi M. óxido de grafeno inducido osteogénesis cuantificado por espectroscopia de flúor de la fluorescencia in situ en el in situ. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19 :3336. doi: 10.3390/ijms19113336. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

153. Pinto A.M., Moreira S., Goncalves I., Gama F.M., Mendes A.M., Magalhaes F.D. Biocompatibilidad de ácido poliláctico) con materiales incorporados a base de grafeno. *Colloides Surf. B Biointerfaces.* 2013; 104 :229-238. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.12.006. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

154. Chai Q., Jiao Y., Yu X. Hidrogeles para aplicaciones biomédicas: Sus características y los mecanismos detrás de ellos. *Gtas.* 2017; 33:6. doi: 10.3390/gels3010006. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

155. Zhao F., Yao D., Guo R., Deng L., Dong A., Zhang J. Compositas de hidrogeles polimédicos y sistemas nanoparticulados para aplicaciones biomédicas y farmacéuticas. *Nanomateriales.* 2015; 5 :2054-2130. doi: 10.3390/nano5042054. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

156. Cong H.P., Wang P., Yu S.H. Hidrgelios de grafeno altamente elásticos y superestresables. *Pequeño.* 2014; 10 :448-453. doi: 10.1002/sml.201301591. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

157. Zhang L., Wang Z., Xu C., Li Y., Gao J., Wang W., Liu Y. óxido de grafeno de alta resistencia/hidrogeles compuestos de alcohol polivinilo. *J. Mater. Chem.* 2011; 21 :10399-10406. doi: 10.1039/c0jm04043f. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

158. Xiao X., Wu G., Zhou H., Qian K., Hu J. Preparación y evaluación de la propiedad de hidrogel conductivo mediante poli(cóhol de vinilo)/óxido de polietilenglicol/grafeno para la adquisición de electrocardiograma humano. *Polímeros.* 2017; 99:259. doi: 10.3390/polim9070259. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

159. Meng Y., Ye L., Coates P., Twigg P. Enlace cruzado in situ de poli(cóhol vinilo)/grafeno óxido-polietilenglicol hidrogeles nanocomidos como reemplazo de cartílago artificial: Estructura de intercalación, comportamiento compresivo sin confinamiento y comportamientos bio-tribológicos. *J. El físico. Chem. C.* 2018; 122 :3157-3167. doi: 10.1021/acs.jpcc.7b12465. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

160. Jiang G., Li Q., Chen M., Li J.B., Li J., Huang Y., Besenbacher F., Dong M. Fibras de refuerzo mecánico producidas por compuestos de gel-spinning de ácido poliacrílico (PAA) y óxido de grafeno (GO). *Nanoscale.* 2013; 5 :6265. doi: 10.1039/c3nr00288h. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

161. Zhong M., Liu Y.T., Xie X.M. Hidro-cominos nanocomidos facilitados por doble vinculación a través de interacciones iónicas dinámicas. *J. Mater. Chem. B.* 2015; 33:4001 x 448 doi: 10.1039/C5TB00075K. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

162. Jing X., Mi H.Y., Peng X.F., Turng L.S. Biocompatible, auto-curación, ácido poliacílico altamente elástico/redujo los sensores de hidrogel hidrogel nanocomducidos de óxido de grafeno a través de

química inspirada en el mejillón. *Carbono*. 2018; 136 :63-72. doi: 10.1016/j.carbon.2018.04.065.
[[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

Artículos de International Journal of Molecular Sciences se proporcionan aquí cortesía del **Instituto de Publicaciones Digitales Multidisciplinarias (MDPI)**