



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN

TÍTULO:

“Viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos y células pulpares humanas en presencia de nanoestructuras de disulfuro de molibdeno (MoS_2) obtenidas por síntesis hidrotermal”

FORMA DE TITULACIÓN:

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA

P R E S E N T A:

CAUDILLO GUARDADO AILEEN NAOMI



TUTOR: Dra. Ma Concepción Arenas Arrocena

ASESORES: Dra. Sarahí García Carvajal

Dr. René García Contreras

LEÓN, GTO. 2022.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Para aquellos que luchan por tenerlo
y cuando lo tienen
lo cuidan y lo aman
como si no quisieran perderlo nunca.*

Agradecimiento personal

A mí abuelo que ilumina el cielo dedico esta tesis, que desde el hospital y con mirada compasiva, creyó en mí, en que sería parte de esta institución y que aún con su partida me acompaña siempre.

A mis papás por brindarme su amor y apoyo incondicional, ustedes son parte fundamental de la conclusión de mis estudios, sin ustedes, no habría sido posible, son mi ejemplo de sacrificio, amor y perseverancia, y siempre les estaré agradecida por ello.

A mi hermano por ayudarme siempre y hacerme reír, así como enseñarme que la vida es más sencilla viéndola a través de tus ojos y que lo complicado no lo es, si en el camino tienes un "Vos".

A mi Teco, que me acompañó en todo el proceso universitario, gracias por seguir aquí, por el cariño, y confiar en mí, mi corazón te agradece más que mis palabras, te quiero.

A mi alma máter, mi querida ENES, que me brindó conocimiento, amigos, y la oportunidad de coincidir con académicos y personas muy talentosas, que formaron parte de la conclusión de mi paso por la ENES. Agradezco con especial cariño a mis tutores y asesores, su apoyo ha sido una parte fundamental para la conclusión de este proyecto. Ese apoyo, ha trascendido más allá de lo académico. Gracias por abrirme las puertas del laboratorio y darme la oportunidad de trabajar con ustedes durante todo este tiempo en su equipo de trabajo. Espero haber compensado con los resultados de mi trabajo un poco de todo lo que ustedes me brindaron a mí. Agradezco su paciencia, tiempo y dedicación que me han dado para llevar al mejor término posible cada tarea, cartel, seminario y hoy en día tesis. Me voy habiendo aprendido mucho de ustedes y espero poner en alto todas sus enseñanzas en el futuro.

Me agradezco, por no quitar el dedo del renglón, por soñar en grande, y perseguir mis sueños, hoy estoy cumpliendo uno y todos hemos formado parte de ello, gracias.

Agradecimiento institucional

Agradezco al proyecto PAPIIT-DGAPA: IN112921 por el financiamiento otorgado para el desarrollo de este trabajo de tesis.

Gracias a la Mtra. Lourdes Palma-Tirado por las mediciones de TEM y a la Ma. Christian Albor-Cortés por las mediciones de Difracción de Rayos X.

Índice general

1	Capítulo	5
1.1	Introducción	5
2	Capítulo	7
2.1	Marco teórico	7
2.1.1	Nanomateriales	7
2.1.2	Semiconductor	10
2.1.3	Puntos cuánticos (QDs)	10
2.1.5	Disulfuro de molibdeno (MoS ₂)	12
2.1.6	Nanoestructuras de Disulfuro de Molibdeno (MoS ₂)	17
2.1.7	Células troncales mesenquimales	27
2.1.8	Fibroblastos gingivales humanos (hGF)	27
2.1.9	Células pulpares humanas (hDPSC)	28
2.1.10	Citotoxicidad	28
3	Capítulo	32
3.1	Antecedentes	32
4	Capítulo	35
4.1	Planteamiento del problema	35
4.2	Justificación	35
4.3	Objetivos	35
4.3.1	General	35
4.3.2	Específicos	35
4.4	Pregunta de investigación	35
4.5	Hipótesis	36
5	Capítulo	36
5.1	Tipo de estudio	36
5.2	Universo de estudio	36
I.	Nanoestructuras de disulfuro de molibdeno (MoS ₂)	36
5.3	Variables	36
5.3.1	Variables dependientes	36
5.3.2	Variables independientes	36
5.4	Criterios	37
5.4.1	Inclusión	37
5.4.2	Exclusión	37
5.5	Materiales	37
5.5.1	Síntesis hidrotermal de nanopartículas de MoS ₂	37
5.5.2	Cultivo celular	37

5.5.3	Ensayo MTT	37
5.6	Metodología	38
5.6.1	Síntesis hidrotermal de nanoestructuras de MoS ₂	38
5.6.2	Ensayo de citotoxicidad	39
6	Capítulo	40
6.1	Resultados	40
6.1.1	Caracterización de nanoestructuras de MoS ₂	40
6.1.2	Ensayo de viabilidad celular	40
6.2	Discusión	41
7	Capítulo	41
7.1	Conclusiones	41
8	Capítulo	41
8.1	Bibliografía	41

Capítulo 1 Introducción

Los nanomateriales ultrafinos bidimensionales (2D) son una clase emergente de nanomateriales que poseen estructuras en forma de hoja con un tamaño lateral mayor a 100 nm, o hasta unos cuantos micrómetros, pero el grosor es solo de uno o pocos átomos de espesor (típicamente menos de 5 nm) (1). Sus funciones datan del 2004 cuando Novoselov, Geim y colaboradores, exfolian con éxito grafeno del grafito utilizando cinta Scotch (2). Hoy en día, estos nanomateriales no sólo se basan en el grafeno, sino también en los dicalcogenuros de metales de transición (TMD, por sus siglas en inglés) (3). Los nanomateriales 2D poseen características singulares debido al confinamiento de electrones dimensional presentando propiedades químicas, físicas, electrónicas, fotónicas, catalíticas y biológicas únicas (4). A la fecha los nanomateriales 2D han despertado un gran interés debido a que es posible utilizarlos en distintos campos, como sensores (5), almacenamiento de energía electroquímica (6) y biomedicina (7).

La estequiometría de estos nanomateriales está basada en la formación de capas hexagonales de átomos de metal (M), intercaladas entre dos capas de calcógeno (X=S, Se, Te) (8). El disulfuro de molibdeno (MoS_2) está constituido por capas de S-Mo-S unidas por fuerzas de Van der Waals (9). Actualmente, los métodos de preparación de las nanoestructuras de MoS_2 se dividen en métodos descendentes y ascendentes (10). Entre los métodos descendentes se incluyen exfoliación mecánica (11, 12), en fase líquida (13, 14), química (15) y electroquímica (16, 17). Los métodos ascendentes se puede mencionar el método hidrotermal (18) que involucra reacciones heterogéneas por encima de 100°C y 1 bar de presión permitiendo la disolución de compuestos que bajo condiciones normales no es posible (16), la presión constante permite obtener una velocidad regular y uniformidad de nucleación, control sobre el tamaño, crecimiento y maduración, de modo que el material se obtiene en forma de precipitado directamente de la solución resultante. Adicionalmente la presión y la temperatura constantes favorecen la obtención de las diferentes fases cristalinas de MoS_2 . Entre las ventajas de este método, se encuentra que es de bajo costo, menor número de precursores y su simplicidad de realización, además la temperatura es seleccionada conforme la morfología deseada y no se requieren condiciones de reflujo o atmósfera inerte (19).

La monocapa de MoS_2 posee una banda prohibida directa de 1.8 eV (11), la cual muestra propiedades electrónicas y ópticas únicas (11-20). Las nanoestructuras de MoS_2 poseen excelentes propiedades mecánicas y tribológicas (21); cuenta con una gran superficie específica con excelente estabilidad química y una alta conductividad electrónica, lo que resulta útil para las aplicaciones de biosensores electroquímicos (22), baterías (23), supercondensadores (24, 25), etcétera. Gracias a estas múltiples propiedades, el MoS_2 ha sido estudiado para el campo biológico, ya que en comparación con el grafeno, la banda prohibida directa de 1,8 eV de la monocapa de MoS_2 es prometedora para la electrónica biológica flexible a nivel nanoescala (26, 27) y para dispositivos de biodetección (28). A medida que se proponen más dispositivos biológicos basados en el MoS_2 , aumenta la preocupación por su toxicidad para las células y los tejidos vivos, por lo que es de suma importancia explorar los efectos citotóxicos del MoS_2 .

Es bien sabido que los TMD tienen baja citotoxicidad, sin embargo, los estudios aún son escasos y poco concluyentes. Yang y col; reportaron que el MoS_2 exfoliado químicamente tenía efectos antimicrobianos debido a la producción de especies reactivas de oxígeno (29). Fan et al. también demostró que una nanopláca de MoS_2 exfoliada actuaba como un material antimicrobiano bajo luz visible debido a la transición de fase en entornos biológicos (30). Estos comportamientos antibacterianos del MoS_2 implican que la toxicidad no puede pasarse por alto.

El objetivo de este estudio es evaluar la citotoxicidad de nanoestructuras de MoS_2 en contacto con células pluripotenciales como fibroblastos gingivales humanos (hGF) y células pulpares humanas (hPDSC) (31).

Capítulo 2 Marco teórico

2.1 Nanomateriales

Los nanomateriales son materiales que contienen partículas con una o más dimensiones en la nanoescala, es decir; desde aproximadamente 1 a 100 nanómetros (nm) o incluso a nivel de moléculas o átomos (32, 33).

Los nanomateriales se pueden presentar de forma natural, o como subproducto no intencionado de un proceso industrial, conocido como partículas ultrafinas. El término nanomaterial también incluye los nanomateriales diseñados intencionadamente con propiedades específicas (mecánicas, eléctricas, ópticas, catalíticas, etc.). Además, pueden presentarse en forma de nano-objetos, los cuales son materiales que se caracterizan por tener una, dos o tres dimensiones externas en la nanoescala, lo cual influye al determinar las propiedades del material (34).

2.1.1 Clasificación y características de los nanomateriales

Las clasificaciones propuestas para los nanomateriales está basada tanto en el tamaño de sus dimensiones o la de alguno de sus componentes (35). Se establecen así cuatro categorías: 0D, 1D, 2D y 3D, indicándose con esta nomenclatura cuántas de las dimensiones de la nanoestructura superan el rango de la nanoescala. La importancia de los nanomateriales viene determinada por la cantidad de posibles aplicaciones en campos tan diversos como la catálisis, el transporte de fluidos, el suministro controlado de medicamentos, almacenamiento de gases, compuestos orgánicos, energía, entre otros (36).

2.1.1.1 Nanomateriales de dimensión cero (0D)

Una estructura 0D es el bloque de construcción más simple que se puede utilizar para el diseño de los nanomateriales. En este caso, las tres dimensiones están en régimen nanométrico y tienen un diámetro inferior a 100 nm. A este grupo corresponden las nanopartículas, nanocristales y nanoclusters (37).

El término nanopartícula se utiliza generalmente para definir todas las nanoestructuras 0D (sin importar el tamaño y la morfología), o aquellas que son amorfas y poseen una forma irregular que pueden ser de origen natural, semiconductoras, metálicas, óxidos, fullerenos o puntos cuánticos (véase figura 1A). También puede ser definida como una nanoestructura amorfa o semicristalina cuyo tamaño oscila entre los 10 nm y 1 μ m (38, 39).

Por otro lado, los nanoclusters como las nanopartículas, poseen una estructura amorfa o bien semicristalina, pero son más pequeños que las nanopartículas: su diámetro oscila entre 1 y 10 nm. Además, los nanocristales son nanoestructuras monocristalinas cuyo tamaño varía entre 1 y 30 nm. Estos nanocristales semiconductores se conocen más comúnmente como puntos cuánticos (40).

2.1.1.2 Nanomateriales monodimensionales (1D)

Tienen una longitud variable conservando dos dimensiones (altura y anchura) en régimen de nanómetros; a estos corresponden los nanohilos y nanotubos (39). Los nanohilos son estructuras cristalinas alargadas que destacan por sus propiedades conductoras o semiconductoras (40). Se han obtenido nanohilos de diversos materiales metálicos (41), semiconductores (42), óxidos (43), etc. En los últimos años, los nanohilos han mostrado especial interés científico debido a sus posibles aplicaciones en nanoelectrónica, optoelectrónica y sensores (44). Un nanotubo es una estructura tubular con su interior hueco que es sintetizado y caracterizado a partir de materiales laminares inorgánicos (45), los cuales poseen una estructura en capas,

generalmente cargadas negativamente con cationes de compensación interlaminares y cuya coordinación de los elementos suele ser tetraédrica u octaédrica (46), dichos materiales son empleados en un amplio número de aplicaciones que pueden ir desde las más convencionales como catálisis, adsorción o separación, microelectrónica, fotoluminiscencia, óptica no lineal y sensores. Entre las ventajas de los materiales inorgánicos, está su elevada estabilidad mecánica, térmica y estructural (47). Sin embargo, los más estudiados son los nanotubos de carbono (CNTs, por sus siglas en inglés, carbon nanotubes) figura 1B (43).

2.1.1.3 Nanomateriales bidimensionales (2D) y tridimensionales (3D)

Las nanoestructuras 2D son nanomateriales formadas por capas muy finas: nanocapas o películas delgadas con áreas de tamaño indefinido y un espesor entre 1 y 100 nm (figura 1C). Son prometedoras para aplicaciones como los sensores, la electrónica/optoelectrónica y la biomedicina. El grosor atómico les confiere una gran flexibilidad mecánica y transparencia óptica, lo que las convierte en un material prometedor para la fabricación de dispositivos electrónicos y optoelectrónicos (36).

Los nanomateriales tridimensionales (3D) son materiales que no están confinados a la nanoescala en ninguna dimensión. Esta clase puede contener polvos a granel, dispersiones de nanopartículas, haces de nanotubos, así como multi-nanocapas (véase figura 1 D) (37).

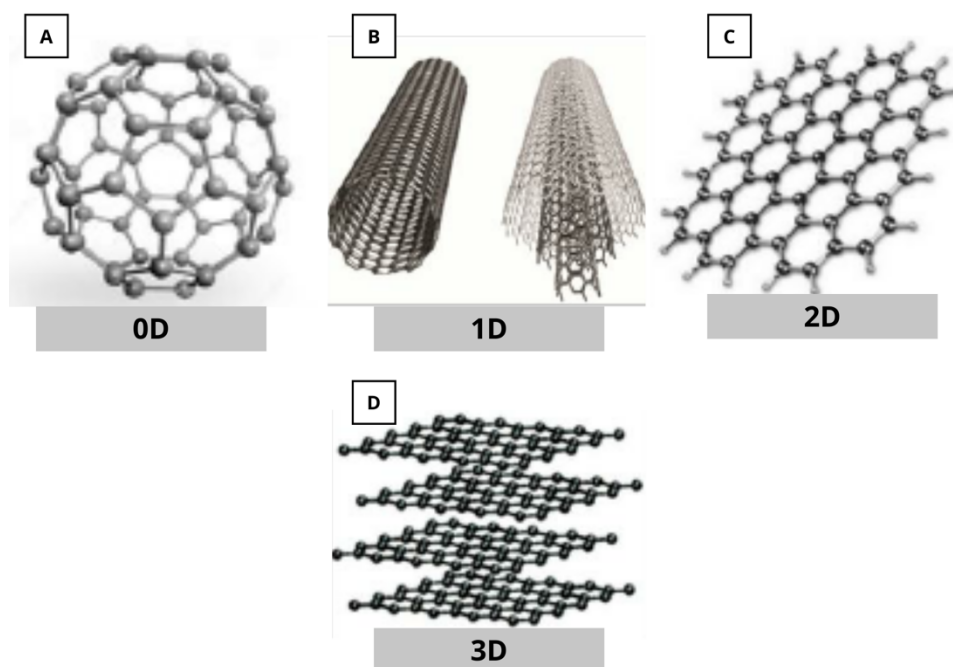


Figura 1. Ejemplos de nanoestructuras (A) Fullerenos, (B) Nanotubos, (C) Grafeno, (D) Grafito (36).

2.1.1.3.1 Puntos cuánticos (QDs)

Se definen como cristales coloidales semiconductores, constituidos por cientos o miles de átomos ordenados en una estructura cristalina de forma habitualmente esférica compuestas de elementos pertenecientes a los grupos II-VI, III-V, o IV-VI de la tabla periódica, con dimensiones alrededor de 2 a 10 nanómetros. Su característica esencial es que los electrones que lo constituyen están obligados a mantenerse confinados en

las tres dimensiones, lo que genera diversos fenómenos cuánticos. Para que dicho proceso tenga lugar, se comportan como un único átomo (47).

2.2 Semiconductor

De acuerdo a la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), un semiconductor se define como un material cuya conductividad, debida a cargas de ambos signos, se encuentra normalmente en el rango entre los metales y los aislantes; y la densidad de portadores de carga eléctrica puede ser modificada por medios externos (45).

Todas las características particulares de los semiconductores pueden explicarse en función de la configuración electrónica de sus átomos. Los elementos semiconductores de la tabla periódica se presentan en la Tabla 1. Estos elementos se enlazan covalentemente para formar el sólido, compartiendo los electrones de su última capa con cuatro átomos vecinos (48).

Tabla 1. Elementos semiconductores de la tabla periódica.

Elemento	Grupo	Electrones en la última capa
Cd	XII	2
B, Ga, In	XIII	3
(C), Si, Ge	XIV	4
(N), P, As, Sb	XV	5
(S), Se, Te	XVI	6

2.3 Calcogenuros metálicos

Los calcogenuros son una serie de compuestos químicos formados entre un ion metálico y un anión del grupo XVI de la tabla periódica y un elemento metal de carácter electropositivo. Suelen subdividirse en calcogenuros de metales alcalinos y alcalinotérreos y calcogenuros de metales de transición. Otra clasificación es en función del estado de oxidación del metal (50).

En los calcogenuros metálicos los enlaces M-X son covalentes, mientras que los enlaces entre las capas del calcógeno son enlaces débiles de tipo Van der Waals, de ahí su relativa facilidad a exfoliarse (51).

2.3.1 Dicalcogenuros de metales de transición (TMD)

Los dicalcogenuros de metales de transición (conocidos como TMDs, del inglés Transition Metal Dichalcogenides) se enmarcan dentro del gran conjunto de materiales con estructuras laminares tanto tridimensionales (3D, en escala bulto) como bidimensionales (2D, en escala nanométrica) (52).

Presentan estructura laminar con estequiometría MX_2 , según esta nomenclatura, M corresponde a un metal de transición, habitualmente de los grupos IV (Ti, Zr, Hf), V (V, Nb, Ta) o VI (Mo, W), mientras que X corresponde a un elemento calcógeno como el S, Se o Te. El metal de transición y el calcógeno se encuentran

fuertemente unidos a través de enlaces esencialmente covalentes, originando así láminas basadas en unidades X-M-X. De esta forma, la estructura laminar del material en bulto se consigue mediante apilamiento de dichas capas, las cuales se mantienen a su vez unidas a través de interacciones no covalentes, consideradas en su mayoría como fuerzas de Van der Waals véase figura 2(53, 54).

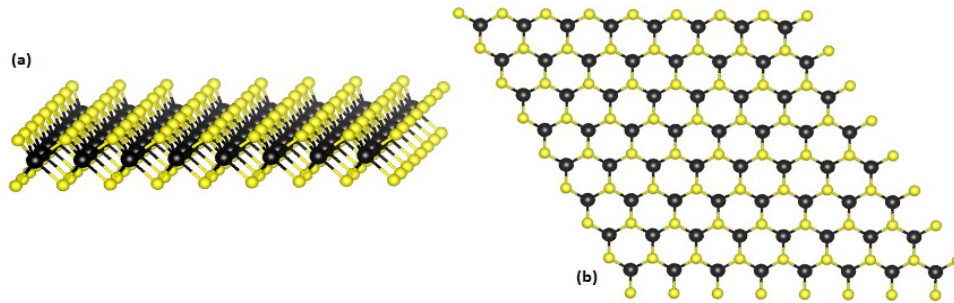


Figura 2. Estructura hexagonal de monocapas de TMDs. Los metales se representan como átomos en negro y los calcógenos en amarillo. Vista lateral, (a), y superior, (b) (52).

Esta característica estructural permite que estos sean materiales fácilmente exfoliables para obtener nanocapas de los mismos con propiedades ópticas y electrónicas únicas (53).

Otra de las características más representativas de los TMDs es su polimorfismo, gracias a ello, presentan gran diversidad composicional, estructural y electrónica lo cual justifica el amplio espectro de propiedades que presentan (55).

2.4.2 Aplicaciones

Los calcógenos metálicos se consideran atractivos para diversas aplicaciones, como la electrónica, la fotónica, y dispositivos energéticos. Estas aplicaciones se inspiran en las propiedades únicas de los materiales, como el perfil atómico delgado el cual presenta las condiciones ideales para la máxima eficiencia (56). Además, presentan particular interés para aplicaciones en nanotecnología, considerada para dispositivos electrónicos y de energía potencialmente ubicua, lo cual permite beneficiar la gama de propiedades excepcionales que ofrecen los materiales 2D. Esto debido a que poseen una química muy versátil y origina un área de investigación muy interesante gracias a su relativa sencillez de obtención (53).

2.5 Disulfuro de molibdeno (MoS_2)

El disulfuro de molibdeno es un compuesto químico inorgánico. Este compuesto cristalino se da de forma natural formando lo que se conoce como molibdenita; el cual es un mineral que pertenece al grupo de los sulfuros y es considerado como un mineral de origen hidrotermal característico de alta temperatura (alrededor de 550°C) (57), el cual en su forma general, aparece como un sólido oscuro y brillante.

Es considerado como un importante semiconductor con una brecha de banda, $E_g = \sim 1,8 \text{ eV}$ y una absorción máxima a 650 nm (58). Tiene aplicaciones prometedoras en múltiples campos técnicos, como la catálisis fotoquímica, los sensores de gas, detectores de láser e infrarrojos, celdas solares, materiales ópticos no lineales, dispositivos de luminiscencia, dispositivos optoelectrónicos, etc. (59, 60). Es uno de los candidatos más importantes entre los compuestos III-VI para detectar la radiación visible (61).

2.5.1 Estructura química

El disulfuro de molibdeno pertenece a una clase de materiales llamados “dicalcogenuros de metales de transición” (TMD), que tiene un átomo de molibdeno y dos átomos de azufre. Los dicalcogenuros son compuestos químicos formados por un metal de transición, como el molibdeno, y un calcógeno (elemento del grupo 16 de la tabla periódica) como el azufre (S) (62). La fórmula química del disulfuro de molibdeno es MoS_2 (63).

El MoS_2 consta de capas que tienen una disposición en forma de un átomo de Mo rodeado por seis átomos de azufre. Consta de capas que tienen un espesor de tres átomos y en la configuración de MoS_2 , las capas adyacentes están asociadas con fuerzas débiles de Van der Waals que facilitan el deslizamiento de las capas de MoS_2 entre sí (64). Además, posee una resistencia al corte contra la carga normal de 24,6 MPa. Por lo tanto, el MoS_2 presenta características y propiedades mecánicas divergentes que lo hacen eficiente para lubricantes sólidos, celdas solares, en el campo de la biomedicina, entre otros (11). Además el MoS_2 exhibe politipismo, es decir, presenta una variedad de polimorfismo, el cual se produce cuando dos polimorfos se diferencian únicamente en el apilamiento de láminas o capas cristalinas bidimensionales (65). El MoS_2 tiene tres formas diferentes de configuraciones tales como 1T (65), 2H (66) y 3R (67) los cuales pertenecen al grupo de puntos $D6d$, $D6h$ y $C3v$ respectivamente. En estos politipos, el primer dígito representa cuántas capas están presentes en la disposición y el alfabeto indica la configuración cristalográfica. En estos politipos, "T" representa el triángulo, "H" representa hexagonal y "R" representa la disposición romboédrica. Aplicando algunas alteraciones en el procedimiento de síntesis, se pueden lograr diferentes alotropías y morfologías como 3D (flores, copos de nieve y diente de león), 2D (nanohojas, nanobandas y nanocintas), 1D (nanocables y nanovarillas) y 0D (nanoplaquetas). El MoS_2 termodinámicamente estable y natural es 2H con 3% de 3R (64,66).

La estructura cristalina del disulfuro de molibdeno (MoS_2) adopta la forma de un plano hexagonal de átomos de S a cada lado de un plano hexagonal de átomos de Mo. Al ser un compuesto 2D presenta una estructura química pequeña y laminar, de tres átomos: una lámina de átomos de molibdeno (Mo^{4+}) interceptada entre otras dos láminas de azufre (S^{2-}), es decir, la estructura laminar es de tipo S-Mo-S; estos planos triples se apilan unos sobre otros, con fuertes enlaces covalentes con distancia de 2.42 Å entre el Mo y el S; la interacción entre láminas es débil, de tipo Van der Waals (véase figura 3), con un grosor de lámina y espacio entre cada una de ellas de (~0.65 y 6.5) Å, respectivamente (64, 67) que mantienen las capas unidas. Esto permite que se separen mecánicamente para formar láminas bidimensionales de MoS_2 . Las láminas de MoS_2 , al igual que el grafeno y el grafito, son de estructura hexagonal (véase figura 3).

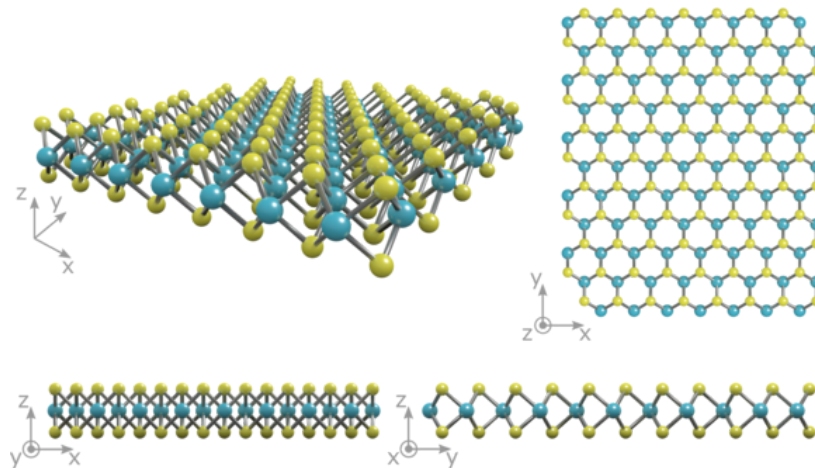


Figura 3. La estructura cristalina del MoS_2 monocapa muestra una capa de átomos de molibdeno (azul), intercalada entre dos capas de átomos de azufre (amarillo)(64).

Se ha reportado que para el MoS_2 existen cuatro diferentes estructuras cristalinas: MoS_2 -1H, MoS_2 -2H, MoS_2 -1T y MoS_2 -3R (64,68).

De forma general presentan estas características:

La fase 1H se reconoce como la más simple celda unitaria para el MoS_2 en monocapa, así como la más estable de todas ellas, presenta la forma S-Mo-S; la fase 2H corresponde a una coordinación de prisma trigonal alrededor del Mo con dos unidades S-Mo-S por celda unitaria; al igual que 2H, la fase 3R presenta una coordinación de prisma trigonal pero con tres unidades S-Mo-S por celda unitaria a lo largo de la dirección del eje c; una configuración de simetría de cristal octaédrico es para la fase 1T (véase figura 4), siendo esta última y la fase 3R fases metaestables (68).

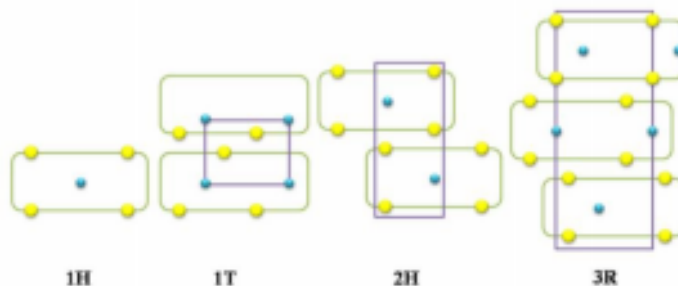


Figura 4. Esquema de fases cristalinas del MoS_2 (68)

2.5.2 Propiedades Ópticas y eléctricas

Se ha demostrado que el coeficiente de absorción (profundidad de penetración de la luz en una longitud de onda particular en conjunto con el material, antes de que la luz se absorba por completo) tanto de la multicapa como de la monocapa de MoS_2 es comparativamente mayor cerca del espectro visible (400-500 nm) ya que no rodean todo el rango visible (400-700 nm) y se presenta una fuerte caída a 500 nm (65).

El coeficiente de extinción se define como la forma en que la luz atraviesa fácilmente el material en una longitud de onda única. Para una sola capa de MoS_2 , se demuestra que el coeficiente de extinción exhibe su pico a 450 nm. Esto muestra que en esta longitud de onda única, la luz se retiene por una sola capa de MoS_2 (61). Por encima de los 500 nm, el coeficiente de extinción es muy inferior, lo que muestra que la capa única de MoS_2 es transparente después de 500 nm (69). Para MoS_2 multicapa, el pico también aparece a ~ 400 nm pero la fuerza del pico en multicapa es mayor que la de MoS_2 monocapa, lo que significa que las multicapas de MoS_2 retienen la luz mejor que una sola capa de MoS_2 a esta longitud de onda (70).

El MoS_2 monocapa ha demostrado ser menor a 250 nm del valor del índice de refracción (relación entre la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad de la luz en este material), cuyo promedio se encuentra entre 1 y 2, lo cuál indica que es transparente a la luz visible. Por otro lado, alrededor de MoS_2 multicapa, el índice de refracción es siempre mayor que 2; asimismo, el MoS_2 tanto multicapa como monocapa presenta un índice de refracción máximo cerca de 500 nm (71).

Las nanoestructuras de MoS_2 han mostrado una absorción óptica no evidente en los espectros de absorción ultravioleta-visible (UV-vis), y sólo picos de hombro a unos 300 nm, que son las características excitónicas de las nanoestructuras de MoS_2 , las cuales se pueden obtener en la región UV debido al efecto de confinamiento cuántico (70, 72).

La absorción óptica de las nanoestructuras de MoS_2 , obtenidas mediante síntesis hidrotermal con precursores de molibdato de amonio, tiourea y acetilcisteína han mostrado tres bandas de absorción características a 264 nm, 313 nm y 380 nm (Fig.5 B) (71).

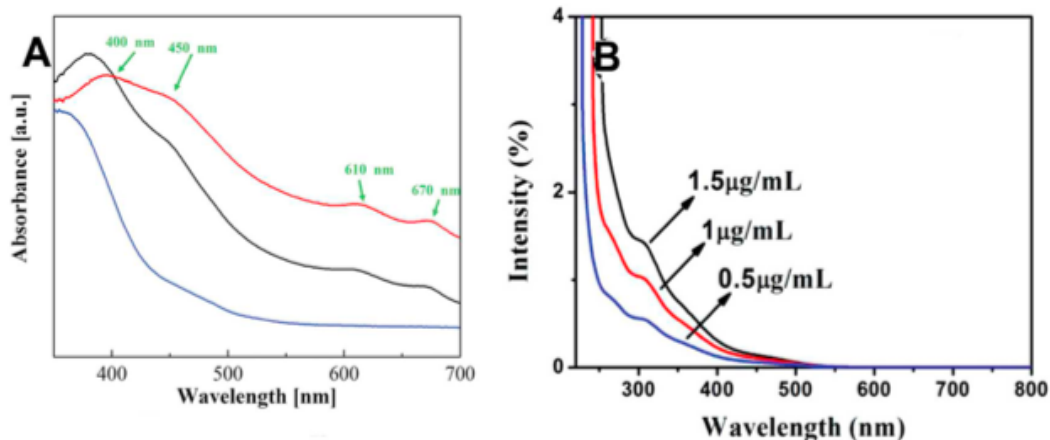


Figura 5. (A) Espectros de absorción UV-Vis de nanohojas de MoS₂ de gran tamaño (línea roja), nanohojas de MoS₂ de pequeño tamaño (línea negra) y nanoestructuras de MoS₂ (línea azul) (B) Espectros de absorción UV-Vis de las nanoestructuras de MoS₂ en soluciones acuosas con diferentes concentraciones (71).

2.5.3 Propiedades Mecánicas

Las monocapas de MoS₂ tienen una alta resistencia, menor que la del grafeno, y buena elasticidad, similar a la del óxido de grafeno, con un módulo de Young de $0,33 \pm 0,07$ TPa (11). Una sola capa de MoS₂ tiene más flexibilidad que las estructuras multicapa, donde su módulo de Young es de 0,24 TPa. A diferencia de otros semiconductores, la flexibilidad del MoS₂ evita la deformación y los desplazamientos de la brecha de banda que pueden producirse en su estructura cristalina cuando se somete a tensión. Sin embargo, la deformación mecánica sirve para alterar las características electrónicas del MoS₂ y transformarlo de semiconductor a metal (70).

Las monocapas de MoS₂ son flexibles, y se ha demostrado que la fabricación de transistores (FET) de película fina conservan sus propiedades electrónicas cuando se doblan a un radio de curvatura de 0.75 mm (64). Tienen una rigidez comparable a la del acero, y una mayor resistencia a la rotura que los plásticos flexibles (11), lo que los hace especialmente adecuados para la electrónica flexible.

Con alrededor de $35 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$, la conductividad térmica de las monocapas de MoS₂ es ~ 100 veces menor que la del grafeno (71).

2.5.4 Propiedades Físicas

Las propiedades físicas a resaltar del MoS₂ por brindarle diversas aplicaciones son:

- Semiconductor transparente
- Baja presión de vapor
- Alto punto de ebullición
- Densidad: 4.80 g / cm^3 ($14 \text{ }^\circ\text{C}$)
- Dureza de 1.0-1.5 ($\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$) a 2 ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en escala de Mohs
- Bajo coeficiente de fricción ($\mu < 0.1$)
- Band gap óptico directo de (1.2 a 2.1) eV en su estructura multicapa
- Band gap óptico indirecto de (1.8- 2.1) eV, en su estructura monocapa (64,70).

2.5.5 Propiedades Químicas

- Fórmula química MoS_2
- Presenta una estructura laminar de tres capas, una central de Mo y dos laterales de S que actúan como una fuerte unión iónica, resistiendo así la rugosidad de las superficies.
- Punto de fusión $1185\text{ }^\circ\text{C}$
- Es térmicamente estable entre $-180\text{ }^\circ\text{C}$ y $+450\text{ }^\circ\text{C}$; $+630\text{ }^\circ\text{C}$ sin acceso de aire y $+1340\text{ }^\circ\text{C}$ en atmósfera de argón (64, 11)

2.6 Nanoestructuras de Disulfuro de Molibdeno (MoS_2)

Las nanoestructuras de MoS_2 han sido ampliamente estudiadas por muchos grupos de investigación debido a sus excelentes propiedades (69); ya que absorben la luz especialmente en la región visible y tienen una buena fotoestabilidad bajo irradiación. Por lo tanto, desempeñan un papel importante en la producción de hidrógeno y las convierte en nanoplataformas prometedoras en aplicaciones biomédicas (73).

El MoS_2 puede adoptar nanoestructuras similares a las del carbono debido a la estabilidad termodinámica y mecánica de las capas atómicas bidimensionales S-Mo-S. En la literatura se han reportado nanoestructuras de MoS_2 tipo: partícula-fullereno (74,75); nanotubos (76); tipo-flores (77); películas (78) y hojuelas (79). Todas estas nanoestructuras de baja dimensión conservan las propiedades características del MoS_2 bidimensional (80).

2.6.1 Técnicas de síntesis de nanoestructuras de MoS_2 y su relación en Odontología

Existen diferentes técnicas para obtener capas de MoS_2 , cada una de ellas da como resultado diferentes cantidades, formas y tamaños. Principalmente los enfoques utilizados en la síntesis de nanoestructuras, son la técnica descendente (top-down) la cual depende del grabado de planos de cristal de un sustrato que tiene los cristales colocados sobre él (81, 82). En esta técnica, los dispositivos más pequeños se crean utilizando los más grandes para dirigir su ensamblaje. Así, las características pequeñas se crean empezando con materiales más grandes y tallando hacia abajo para hacer estructuras a nanoescala en patrones precisos (19) véase figura 6. Se pueden fabricar estructuras complejas con cientos de millones de nanoestructuras colocadas con precisión. Los materiales se reducen a nanoescala y pueden mostrar repentinamente propiedades muy diferentes permitiendo aplicaciones únicas (83), las técnicas utilizadas son: exfoliación mecánica, exfoliación en fase líquida y pulverización (19, 84), en general, las técnicas top-down tienen baja capacidad de control, adaptabilidad, así como un costo elevado (85).

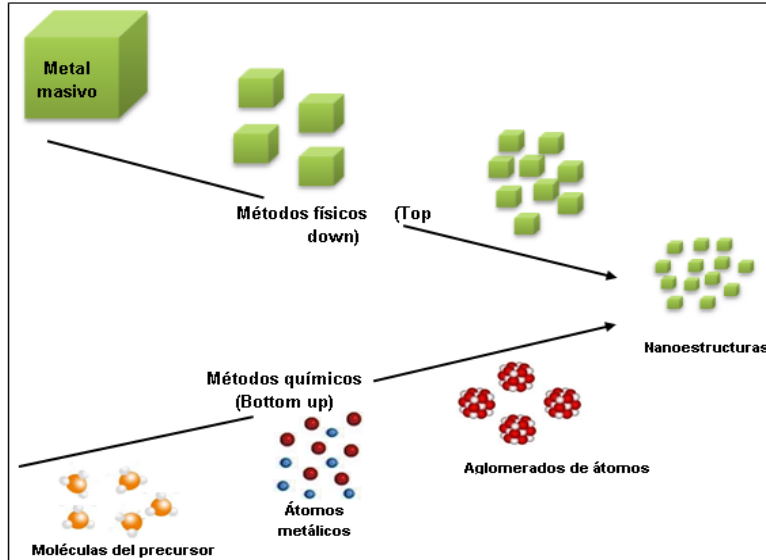


Figura 6. Esquema de métodos de síntesis generales para la obtención de nanoestructuras metálicas (86).

La segunda técnica llamada ascendente (bottom-up), se refiere a que los cristales son apilados sobre el sustrato (87), en esta técnica, los componentes más pequeños se organizan en un ensamblaje más complejo. Se empieza por diseñar y sintetizar moléculas a medida que tengan la capacidad de autoensamblarse o auto-organizarse en estructuras de mesoescala o macroescala de orden superior (83), este método es mucho más económico que los métodos descendentes, pero podrían verse desbordados a medida que aumenta el tamaño y la complejidad del ensamblaje deseado, entre los métodos que podemos mencionar bajo esta técnica son: deposición física de vapor, deposición química de vapor, deposición de capas atómicas y soluciones químicas está última consta de: proceso solvotérmico, síntesis sonoquímica, hidrotermal, entre otras (19).

En el área de Odontología se han empleado diversas nanoestructuras obtenidas mediante estos métodos, permitiendo distintos enfoques en dicha área (88), tal como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Enfoques de la nanotecnología en Odontología (89).

Técnica descendente (Top-down)	Técnica ascendente (Bottom-up)
<ul style="list-style-type: none"> ● Nanocompuestos ● Nanosolución ● Nanorrestaurantes de ionómero de vidrio ● Selladores de fosas y fisuras ● Materiales de impresión ● Dientes de prótesis de nanocomposite ● Nanoencapsulación ● Dentífricos ● Aplicación de plasma láser ● Materiales de sustitución ósea ● Materiales osteoinductivos ● Implantes protésicos ● Radiopacidad ● Alambres de ortodoncia ● Nanoagujas 	<ul style="list-style-type: none"> ● Nanoanestesia local ● Curación de la hipersensibilidad ● Reposicionamiento de dientes ● Dentífrico nanorobótico ● Durabilidad y cosmética dental ● Nanodiagnóstico ● Ayuda terapéutica en enfermedades orales ● Nanoterapéutica/liberación de fármacos ● Terapia génica ● Diagnóstico del cáncer oral ● Tratamiento del cáncer oral ● Sustitución de dientes enteros ● Renaturalización de dientes ● Biomimética dental ● Regeneración endodóntica

- Solución nanoesterilizante

En este trabajo nos centraremos en la síntesis hidrotermal debido a que es una técnica simple, que procura una química verde y utiliza como medio de reacción agua, por lo que no se emplean sustancias nocivas, se sustenta en procesos químicos relativamente sencillos basados en precursores económicos y permite realizar tratamientos adicionales de forma directa, evitar la acumulación y una distribución bien controlada del tamaño y la forma (18).

2.6.1.1 Síntesis Hidrotermal

Este es un proceso químico-húmedo; el cual se lleva a cabo para producir estructuras cristalinas desde los años 70s. Este mecanismo comienza con una mezcla acuosa de sal metálica soluble (metálica y/o metal-orgánica) de los materiales precursores. Normalmente, la solución mezclada se introduce en un autoclave en condiciones de temperatura elevada y presión relativamente alta. Normalmente, la temperatura oscila entre 100°C y 300°C y la presión supera 1 atm (18).

La reacción se lleva a cabo en recipientes sellados, autoclave de acero inoxidable revestido con teflón. En estas condiciones, la presión autógena se desarrolla por sí misma dentro del recipiente. La presión en el interior aumenta con la temperatura, así como con el porcentaje de llenado del recipiente. Este método permite generar altas presiones incluso a temperaturas por debajo del punto crítico del agua. Además, ofrece la ventaja de una importante solubilidad y reactividad de los compuestos inorgánicos, asimismo mejora la reactividad química de los disolventes insolubles (90).

Mediante el método hidrotermal, es posible cultivar nanoestructuras cuánticas semiconductoras, así como nanoestructuras cuánticas metálicas. Ofrece un mayor control sobre los parámetros físicos y químicos; es posible controlar finamente el crecimiento y así obtener nanoestructuras cuánticas con tamaño pequeño, y estequiometría deseada (91). El crecimiento puede ser selectivo por tamaño mediante la variación de parámetros como la temperatura, el tipo de precursor, el tipo de tensioactivo, sus concentraciones y el tiempo de reacción. Además, posee otras ventajas tales como bajo costo, es sencillo de producir y ecológico, además gracias a ello, se puede producir gran cantidad de material de tamaño nanométrico, alta cristalinidad y nanopartículas modificables en la superficie (90, 91).

Varios autores han desarrollado diversas síntesis hidrotermales de nanoestructuras de MoS₂, resultando en nanoestructuras con diversas propiedades (92-98). Para facilitar la comparación de los resultados de estos métodos de síntesis de MoS₂, en la Tabla 3 se presenta un resumen de sus avances.

Tabla 3. Lista de distintos precursores empleados para la síntesis hidrotermal para la obtención de QDs de MoS₂.

Precusores	Rendimiento cuántico (%)	Espectro de emisión (nm)	Referencia
Molibdato de sodio + L-cisteína	2.6 %	402	(91)
Molibdato de sodio + Glutación	~10.3 %	425	(92)
Molibdato de sodio + Dibencil Disulfuros	-	280	(93)

Molibdato de sodio + Tiourea	0.28 %	406	(94)
Acetilacetato de molibdeno + Ácido tioglicólico + Sulfuro de sodio	-	420	(95)
Molibdato de sodio + Sulfuro de sodio + 1,4-Diaminobutano	-	423	(96)
Molibdato de amonio + N-acetil-L-cisteína + Tiourea	~2 %	480	(97)
Tetramolibdato de amonio + Hidracina	-	400	(98)
Tetramolibdato de amonio + Oleilamina	4.4 %	575	(88)

El rendimiento cuántico se mide en una escala de 0 a 1,0, pero a menudo se representa como un porcentaje. Un rendimiento cuántico de 1.0 (100%) describe un proceso en el que cada fotón absorbido da como resultado un fotón emitido. Las sustancias con los mayores rendimientos cuánticos, presentan las emisiones más brillantes; sin embargo, los compuestos con rendimientos cuánticos de 0,10 todavía se consideran bastante fluorescentes (99).

El espectro electromagnético es la distribución energética del conjunto de las ondas electromagnéticas. Referido a un objeto se denomina espectro electromagnético o simplemente espectro a la radiación electromagnética que emite (espectro de emisión) o absorbe (espectro de absorción) una sustancia. Dicha radiación sirve para identificar la sustancia de manera análoga a digital. Los espectros se pueden observar mediante espectroscopios que, además de permitir ver el espectro, permiten realizar medidas sobre el mismo, como son la longitud de onda, la frecuencia y la intensidad de la radiación (100).

Tabla 4. Los precursores de reacción y los disolventes utilizados para sintetizar partículas de MoS₂ con diferentes morfologías (92)

Morfología	Precursor de la reacción	Solvente de la reacción
Nanoflores de MoS ₂	0.6 g Molibdato de sodio (Na ₂ MoO ₄)·Agua deuterada(2H ₂ O)	30 mL de Agua destilada
	0.75 g Tiourea (NH ₂) ₂ CS	
	0.725 g Hidroxilamina (NH ₂ OH) · Ácido clorhídrico (HCl)	
	0.60 g Molibdato de sodio (Na ₂ MoO ₄) · Agua	10 mL de Oleilamina (C ₁₈ H ₃₇ N)

Microesferas de MoS ₂	deuterada(2H ₂ O)	
	0.75 g Tiourea (NH ₂) ₂ CS	15 mL de Etilenglicol (CH ₂ OH) ₂
	0.725 g Hidroxilamina (NH ₂ OH) · Ácido clorhídrico (HCl)	5 mL Polietilenglicol (PEG-400)
Nanoláminas de MoS ₂	Heptamolibdato de amonio (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	8.75 mL de Agua destilada
	1.14 g Tiourea (NH ₂) ₂ CS	8.75 mL Polietilenglicol (PEG-400)

2.7 Aplicaciones

El MoS₂ ha sido estudiado intensamente, gracias a sus diversas propiedades ópticas, eléctricas, químicas, entre otros, lo que ha permitido que este dicalcogenuro metálico tenga una amplia gama de aplicaciones en diferentes campos. Sus propiedades electrónicas le permitieron ingresar en la aplicación de sensores y nanoelectrónica y, a su vez, al campo médico. Estas propiedades electrónicas especiales, junto con su biocompatibilidad, abren el camino a nuevas aplicaciones médicas (83).

A continuación se muestra una selección de ellas:

2.7.1 Electrónicas

El MoS₂ es un material prometedor ya que su banda prohibida tiene un valor distinto de cero, este se comporta como un semiconductor y es eficiente para dispositivos lógicos y electrónicos gracias a su conductividad, la cuál puede ser alterada. Además, en forma concentrada el MoS₂ contiene un bandgap indirecto que se transforma a un bandgap directo en nanoescala. Esto sugiere que una sola capa de MoS₂ puede tener aplicación en dispositivos optoelectrónicos (101) figura 7.

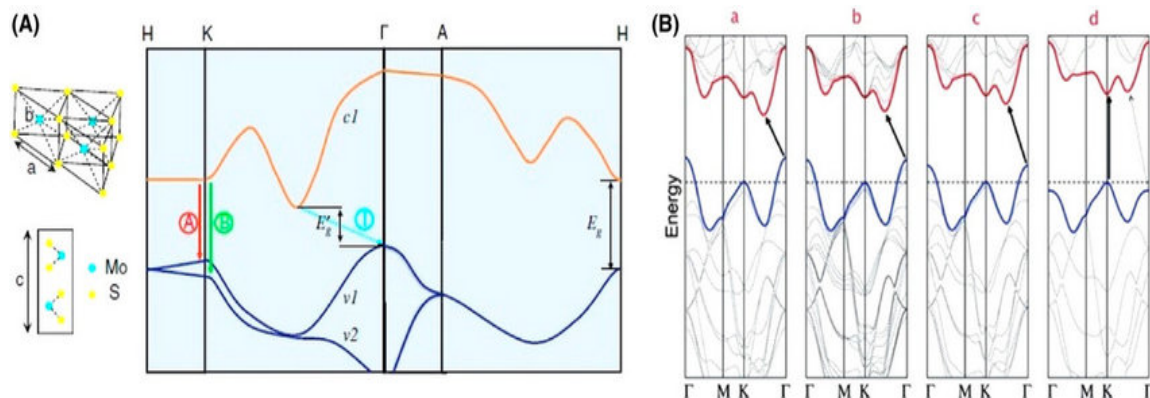


Figura 7. Estructura de banda del MoS₂ (A) mostrando el band gap directo e indirecto, así como los excitones A y B. (B) Transición de la estructura de banda del MoS₂ de la brecha de banda indirecta a la directa (a d) (102).

2.7.2 Celdas solares

El MoS₂ monocapa tiene una absorción óptica visible que es un orden de magnitud mayor que la del silicio, lo que lo convierte en un material prometedor para las celdas solares, ya que al combinarse con la monocapa de disulfuro de tungsteno (WS₂) o grafeno, se han registrado eficiencias de conversión de energía de ~1% (103). Aunque estas deficiencias parecen bajas, el área activa de tales dispositivos sólo tiene un espesor de ~1 nanómetro (comparado con los cientos de micrómetros de las celdas de silicio), lo que corresponde por lo tanto, a un aumento de 104 veces la densidad de potencia (104).

2.7.3 Sensores químicos

La intensidad de la fotoluminiscencia (PL) del MoS₂ monocapa ha demostrado ser altamente dependiente de la adsorción física de agua y oxígeno en su superficie. La transferencia de electrones desde la monocapa hasta las moléculas de gas, estabiliza los excitones y aumenta la intensidad de PL hasta 100 veces (105). Otros estudios basados en las propiedades eléctricas de las estructuras FET han demostrado que los sensores basados en monocapas son inestables cuando detectan NO (106), NO₂, NH₃ y humedad, pero el funcionamiento puede estabilizarse utilizando pocas capas (107).

2.7.4 Electrodo para supercondensadores

Los supercondensadores son dispositivos de almacenamiento de energía que tienen alta densidad de potencia (hasta 10 kW/kg), tiempos cortos de carga y descarga (1-30 s) y alta ciclabilidad (1 000 000 de ciclos de carga/descarga) (108). La principal desventaja es la baja densidad de energía (hasta 5 Wh/Kg), muy inferior a la densidad de energía de las baterías (109). Por esa razón, la investigación actual en el campo de los supercondensadores está dirigida a mejorar la densidad de energía; por lo que la estructura cristalina del MoS₂ (2H) al ser semiconductor, limita su viabilidad para su uso como electrodo. Sin embargo, también permite formar una estructura cristalina de 1T que es 107 más conductiva que la estructura de 2H (107). Las monocapas apiladas de 1T que actúan como electrodos en varias celdas electrolíticas han mostrado mayores densidades de potencia y energía que los electrodos basados en grafito (110).

2.7.5 Aplicación biomédica

En la actualidad, las nanoestructuras de MoS₂, han demostrado una gran variedad de campos de acción debido a sus propiedades únicas antes ya mencionadas. Entre estas aplicaciones, las aplicaciones biológicas son una de las más importantes del MoS₂, ya que estas pueden tener efectos positivos para la salud humana y un papel prometedor en la detección y tratamiento de enfermedades, aprovechando su piridoxal, sus propiedades químicas y su biocompatibilidad, mediante la creación de biosensores, bioimágenes, fototerapia, administración de fármacos, entre otros, así como para el cuidado del medio ambiente (111).

2.7.5.1 Protección contra la radiación

La radiación de alta energía (rayos X, rayos γ) puede provocar la apoptosis de las células mediante la interacción con las moléculas de ADN o H₂O para formar especies reactivas de oxígeno (ROS), la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR del inglés *Reverse transcription polymerase chain reaction*) es el principal método de tratamiento clínico del cáncer en la actualidad (112). Sin embargo, la radiación ionizante puede tener efectos adversos en los tejidos normales en el proceso de eliminación del tumor, causando el efecto tóxico grave en el cuerpo humano (113), por lo que el efecto ideal de la radioterapia es difícil de obtener. Se ha demostrado que varios materiales nanométricos pueden utilizarse como nano radioprotectores, tal es el caso del MoS₂, el cuál demostró que al proteger con cisteína algunas

nanoestructuras y al ser dotados de una elevada actividad catalítica podrían utilizarse como radioprotectores (114), ya que al explorar el efecto de la radiación externa de la cisteína, se comprobó que el efecto de protección contra la radiación provenía del MoS₂. Además, el ADN total de las células de la médula ósea es un factor importante para la evaluación de la radiación ionizante y los puntos de MoS₂ protegidos con cisteína pueden reducir válidamente la lesión del ADN causada por la radiación de alta energía; esto, puede confirmar que los puntos de MoS₂ protegidos con cisteína tienen la capacidad de reducir el daño de la radiación de alta energía en el ADN (115).

2.7.5.2 Terapia contra el cáncer

Hasta ahora, el cáncer sigue siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, sin que haya una relación inevitable con el desarrollo de la sociedad humana (115). El MoS₂ funcionalizado con polietilenglicol PEG (MoS₂-PEG) cargado con doxorubicina (DOX) mostró un excelente efecto sinérgico contra el cáncer. Los resultados experimentales mostraron que el grupo de MoS₂-PEG/DOX podía lograr el mejor efecto terapéutico. Empleando un sencillo método de exfoliación del tratamiento. El MoS₂, preparado con quitosano CS (MoS₂-CS) fue desarrollado para la administración de fármacos activada por la fototermia en el infrarrojo cercano (NIR) y podía utilizarse para promover la terapia contra el cáncer, incluyendo la quimioterapia y la terapia fototérmica. Además, el MoS₂-CS basado en molibdeno (Mo) podría aplicarse a la obtención de imágenes por tomografía computarizada (CT). Cuando se carga con DOX, la respuesta de la liberación del fármaco al láser NIR cercano de 808 nm es controlable. Los resultados experimentales mostraron que MoS₂-CS-DOX + NIR podía frenar el crecimiento del tumor de forma más efectiva. Además, no se observó una disminución significativa del peso de los ratones durante el experimento, lo que indica que los tratamientos tenían una baja toxicidad *in vivo* (116).

2.7.5.4 Nanoarquitecturas de MoS₂ para la obtención de imágenes fluorescentes dirigidas en medicina

El diagnóstico es una parte fundamental del éxito de la oncología. A tal efecto, se ha demostrado que la funcionalización de nanoplacas de MoS₂ (NS) de una sola capa con puntos cuánticos (QD) fluorescentes y péptidos que contienen arginina-glicina (RGD) da lugar a NS de baja dimensión (0D - 2D) RGD-QD-MoS₂ con fluorescencia remarcable, de conversión fototérmica y propiedades de focalización en el cáncer que pueden servir para una amplia variedad de aplicaciones en el campo biomédico (117 ,118).

2.7.5.5 Agentes antibacteriales

Los nanomateriales basados en MoS₂ pueden servir como agente antimicrobiano debido a la actividad catalítica tipo peroxidasa (POD). En la actualidad, las actividades antimicrobianas de los nanomateriales se centran principalmente en *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, por lo que es necesario seguir explorando los efectos bactericidas en otras bacterias y ampliar sus aplicaciones antimicrobianas (119).

2.7.6 Odontología

2.7.6.1 Arcos de Ortodoncia

La fricción entre el arco de alambre y la ranura del bracket siempre ha sido motivo de preocupación para los ortodoncistas cuando utilizan la mecánica de fricción para la retracción. Incluso la nivelación y la alineación de los dientes requieren la menor cantidad de fricción posible para acelerar el movimiento de los dientes, y por tanto, reducir el tiempo de tratamiento (120).

2.7.6.2 Nanorecubrimientos en arcos de alambre

En los últimos años se han utilizado nanopartículas como componente de los lubricantes secos. Los lubricantes secos son materiales en fase sólida capaces de reducir la fricción entre dos superficies que se deslizan entre sí, sin necesidad de un medio líquido. Entre los materiales utilizados como potentes lubricantes secos se encuentran las nanopartículas inorgánicas de sulfuro de tungsteno similares a los fullerenos (IF-WS₂). Éstas pueden utilizarse como recubrimientos autolubricantes para alambres de acero inoxidable para ortodoncia. Éstas pueden utilizarse como recubrimientos autolubricantes para alambres de acero inoxidable para ortodoncia. El recubrimiento consiste en una película de Ni electrodepositada e impregnada con nanoesferas inorgánicas de disulfuro de tungsteno (121).

Se han utilizado diversas nanopartículas como recubrimiento en un esfuerzo por reducir la fricción (122, 123).

Las nanopartículas utilizadas son las siguientes:

1. Níquel-fósforo y disulfuro de tungsteno (WS₂)
2. Co + WS₂ similar al fullereno
3. Nitruro de carbono (CN_x)
4. ZnO
5. Disulfuro de molibdeno (MoS₂)
6. Recubrimiento de carbono tipo diamante y nitrocarburo
7. Polisulfona incrustada con nanopartículas de alúmina dura para soportes (123)

2.8 Células troncales mesenquimales

Las células troncales son un grupo específico de células indiferenciadas que tienen un potencial proliferativo elevado y que presentan dos características fundamentales: son capaces de autorrenovarse, es decir, de formar células idénticas a las células de origen, y tienen la capacidad de generar uno o más tipos celulares que desempeñan funciones especializadas en el organismo (124). Dependiendo de su origen, las células troncales pueden dividirse en células troncales embrionarias y somáticas. Las células troncales embrionarias (CTE) son células pluripotenciales, es decir, cada una de ellas es capaz de generar todos los tipos celulares del organismo. Por su parte, las células troncales somáticas son, en su mayoría, multipotenciales ya que pueden generar una gran variedad de tipos celulares dentro de un tejido específico (125).

Morfológicamente, las células troncales mesenquimales se caracterizan por presentar una morfología espigada, en forma de huso, con la presencia de un núcleo alargado, central, que contiene de dos a tres nucléolos. Aunque algunos autores han reportado que las capas de células troncales mesenquimales contienen células homogéneas en su morfología, existe una mayor evidencia de que estas capas son heterogéneas y contienen células, morfológicamente y al parecer, funcionalmente distintas (126).

2.9 Fibroblastos gingivales humanos (hGF)

Los fibroblastos gingivales humanos (hGF) son células constituidas principalmente de tejido gingival; son células con capacidad de autorrenovación y clonogenicidad (127). Se ha informado que una proporción menor de hGFs es capaz de diferenciarse en varias líneas, incluyendo la diferenciación celular osteoblástica, condrogénica y adipogénica *in vitro* e *in vivo* (127, 128). Los hGF cultivados expresan marcadores de superficie celular asociados a las células madre mesenquimales (MSC), como CD73, CD90, CD105, CD44 y STRO-1, pero son negativos para marcadores hematopoyéticos como CD34 y CD45 (129). Es importante destacar que los hGF también poseen propiedades inmunomoduladoras, asociadas a la secreción de citoquinas antiinflamatorias (127, 128). Las propiedades que posee son similares a las de las células madre de los factores de crecimiento [Growth factor por sus siglas en inglés (GF)], esto se debe principalmente a sus subconjuntos de células pluripotentes, incluidas las células madre mesenquimales derivadas de la encía

(GMSC) y las células progenitoras multipotentes gingivales (GMPC) (130, 131). Estas características de los fibroblastos gingivales han hecho que estas células similares a las células madre se utilicen para la reparación y regeneración de tejidos (132).

La estructura que presentan los fibroblastos bajo el microscopio de luz, son normalmente reconocidos en asociación con agrupaciones de fibras colágenas; éstos al estar en reposo, a través de cortes coloreados con hematoxilina-eosina, se presentan como células achatadas o ahusadas, con finas prolongaciones, núcleo oval cerrado, algo achatado, y escaso citoplasma, el cual es eosinófilo, pero a menudo con una coloración tan débil que puede dificultar su apreciación mediante estos cortes. Éste contiene 1-2 nucléolos y escasa cromatina finamente granulada (133).

Bajo el microscopio electrónico, los fibroblastos activos cuentan con una gran cantidad de organelos complementarios dentro de los que se observan numerosos complejos de Golgi y perfiles de retículo endoplásmico rugoso, mitocondria y vesículas secretoras, todos indicativos de la actividad sintética y secretora manifiesta por este tipo de células (134). Asimismo, es posible apreciar la presencia de un citoesqueleto complejo, constituido por un sistema de microtúbulos y microfilamentos, los cuales completan el patrón de complejidad estructural de esta célula multifuncional (134, 135).

2.10 Células pulpares humanas (hDPSC)

Las hDPSC, también conocidas como células madre de la pulpa dental humana, fueron aisladas por primera vez por Gronthos y colaboradores; a partir de terceros molares, las cuales fueron descritas como células con un alto nivel de clonogenicidad y proliferación, con la capacidad de generar colonias densamente calcificadas (136). La identidad de las hDPSC como células madre mesenquimales (MSCs) ha sido confirmada gracias a su capacidad de diferenciarse en células ectodérmicas neurales, adipocitos, odontoblastos, osteoblastos, condrocitos y mioblastos de origen mesodérmico, lo cual confirma su plasticidad (137).

Estas células se encuentran dentro de la corona dental, en un "nicho de sellado" o "cámara pulpar" que alberga el tejido conectivo conocido como pulpa. Las células residentes del tejido son una población heterogénea representada por fibroblastos estromales también conocidos como pulpoblastos (138) y acompañados por poblaciones odontoosteoprogenitoras, neuronales, células vasculares y células inmunes inflamatorias como las células granulocíticas y macrófagas (139).

Durante el desarrollo embrionario, la pulpa dental es un tejido que algunos autores han descrito como "ectomesénquima" ya que deriva de células ectodérmicas, las cuales crecen en la periferia del tubo neural, migran a la región bucal y luego se diferencian en células de tipo mesenquimal (140). Las células epiteliales dan lugar a los ameloblastos que forman el esmalte, y las MSC forman los odontoblastos, la pulpa y el ligamento periodontal (141).

Desde el punto de vista funcional, la pulpa dental es responsable del mantenimiento y reparación del tejido periodontal; debido a su sistema inmunitario asociado, posee una gran capacidad de regeneración, la cual responde a diversos tipos de daño. Por ejemplo, en casos de irritación severa causada por factores como caries profunda o procedimientos restaurativos que conducen a la destrucción de la capa de odontoblastos o progenitores pulpares (DPSCs), las células de la pulpa dental proliferan y migran al tejido dañado para diferenciarse en odontoblastos y formar dentina reparativa (142, 143), lo que se ha propuesto como el principal mecanismo que conduce a la dentinogénesis reparativa (144).

La morfología de estas células, muestran una forma similar a la de los fibroblastos, siendo células fusiformes y estrelladas, formando algunos agregados, del cual se disponen en forma irradiada y paralelas unas a otras, con finas prolongaciones citoplasmáticas (145, 146).

2.11 Citotoxicidad

La citotoxicidad se define como una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a un daño que puede ser detectado, por lo general cuando son expuestas a un agente específico (147, 148).

Actualmente existen diferentes pruebas *in vitro* para predecir los efectos tóxicos de diferentes compuestos, utilizando como modelos experimentales, cultivos primarios, órganos aislados y líneas celulares establecidas, esto como una alternativa a la experimentación animal (149).

Dentro de las distintas pruebas *in vitro* se encuentran los llamados ensayos de citotoxicidad, capaces de detectar mediante diferentes mecanismos celulares conocidos, los efectos adversos de interferencia con la estructura y/o propiedades esenciales para la supervivencia, proliferación y/o funciones celulares. Dentro de éstos se encuentran la integridad de la membrana y del citoesqueleto, metabolismo, síntesis y degradación, liberación de constituyentes o productos celulares, regulación iónica y división celular (150). La citotoxicidad se define como una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a que se produzca un daño que pueda ser detectado (148).

2.11.1 Norma oficial para ensayos de citotoxicidad

La Norma ISO 10993-5 describe los métodos de ensayo para evaluar la citotoxicidad *in vitro* de los productos sanitarios.

Estos métodos especifican la incubación de las células de cultivo en contacto con un producto y/o extractos de un producto ya sea directamente o por difusión.

Estos métodos están diseñados para determinar la respuesta biológica de las células de mamífero *in vitro* utilizando parámetros biológicos apropiados (151).

2.11.2 Determinación de citotoxicidad

Los efectos citotóxicos se determinan mediante medios cualitativos o cuantitativos.

Evaluación cualitativa: Se examinan las células al microscopio mediante tinción citoquímica u otras (Tabla 6). Se evalúan los cambios celulares, como lo es, la morfología general, vacuolización, desprendimiento, lisis celular e integridad de la membrana (tabla 5)(152).

Tabla 5. Clasificación morfológica cualitativa de la citotoxicidad

Grado	Reactividad	Condiciones de los cultivos celulares
0	Ninguna	Gránulos intracitoplasmáticos discretos, sin lisis celular, sin reducción del crecimiento celular.
1	Ligero	No más del 20 % de las células son redondas, sueltas y sin gránulos intracitoplasmáticos, o muestran cambios en la morfología; hay células lisadas ocasionales presentes; sólo se observa una ligera inhibición del crecimiento.
2	Leve	No más del 50 % de las células son redondas, desprovistas de gránulos intracitoplasmáticos, sin lisis celular extensa; no más del 50 % de inhibición del crecimiento observable.
3	Moderado	No más del 70 % de las capas celulares contienen células redondeadas o están lisadas; las capas celulares no se destruyeron completamente, pero se observó una inhibición del crecimiento superior al 50%.
4	Severo	Destrucción casi completa o completa de las capas celulares.

Tabla 6. Grados de reactividad para la prueba de difusión en agar, filtro y prueba de contacto directo

Grado	Reactividad	Condiciones de los cultivos celulares
0	Ninguna	No hay zona detectable alrededor o debajo de la muestra
1	Ligero	Algunas células se encuentran malformadas bajo la muestra
2	Leve	Zona limitada al área bajo la muestra
3	Moderado	Zona que amplía el tamaño de la muestra hasta 1.0 cm
4	Severo	Zona que se extiende más allá de 1.0 cm del espécimen

Evaluación cuantitativa: Medir la muerte celular, la inhibición del crecimiento celular, la proliferación celular o la formación de colonias. El número de células, la cantidad de proteínas, la liberación de enzimas, la liberación de colorante vital, la reducción del colorante vital o cualquier otro parámetro medible puede cuantificarse por medios objetivos. La reducción de la viabilidad celular en más del 30 % se considera un efecto citotóxico (152,153).

Tabla 7. Clasificación cuantitativa de citotoxicidad

Grado	Condiciones de los cultivos celulares
Dosis letal 50 (DI ₅₀)	Hace referencia a aquella dosis de xenobiótico que causa la muerte de más del 50 %.
Concentración inhibitoria 50 (CI ₅₀)	Representa la concentración de un xenobiótico que se requiere para lograr el 50% de la inhibición del proceso <i>in vitro</i> .

2.12 Conceptos de cultivo celular

Actualmente se entiende por cultivo celular al conjunto de técnicas que permiten el mantenimiento de las células *in vitro*, manteniendo al máximo sus propiedades fisiológicas, bioquímicas y genéticas. Dependiendo del grado de preservación de la estructura del tejido o del órgano de origen y de su duración hablaremos de diferentes tipos de cultivos: de órganos, explantes, primarios o secundarios, etc. Los estudios que emplean cultivos celulares abarcan gran número de disciplinas y aproximaciones al estudio del fenómeno celular (154).

- Actividad intracelular. Mecanismos implicados en los diferentes procesos intracelulares, como la transcripción de ADN, síntesis de proteínas, metabolismo energético, entre otros (155).
- Flujo intracelular. Movimientos intracelulares de sustancias y señales asociadas a los diferentes procesos fisiológicos, como por el ensamblaje y desensamblaje de los diferentes componentes intracelulares, movimientos del RNA: núcleo-citoplasma, movimiento de proteínas (155).
- Ecología celular. Estudio de las condiciones ambientales responsables del mantenimiento de la funcionalidad celular, de su diferenciación, tal es el caso del estudio de las necesidades nutricionales, infecciones, estudio de la transformación celular (inducidas por virus o agentes químicos), cinética de la población celular (156).

- Interacciones celulares. Procesos de inducción embrionaria, cooperación metabólica, inhibición por contacto o por adhesión, interacciones célula-célula (157).

2.12.1 Requerimientos nutricionales del crecimiento celular

Medios de cultivo: Composición de nutrientes esenciales balanceados cuantitativamente.

Aminoácidos: Síntesis de proteínas y ácidos nucleicos.

Hidratos de carbono: Fuente de energía, iones inorgánicos, vitaminas, etcétera.

Suero: Composición no cuantitativa de diferentes componentes con actividad promotora del crecimiento celular.

Requerimientos fisiológicos

- Temperatura (generalmente 37 °C)
- pH óptimo (generalmente 7.2 - 7.4)
- CO₂ (generalmente 5%)
- Presión osmótica
- Humedad cercana a saturación (157)

Tipos de medio de cultivo

Definidos (sin suero): Compuesto por elementos cuya composición química y concentración están perfectamente determinados. Medio solo o con agregados de formulaciones especiales:

Ejemplo de ello son:

- Medio Esencial Mínimo (por sus siglas en inglés Minimum Essential Medium MEM): 27 factores esenciales para el crecimiento celular.
- Medio Esencial Mínimo Modificado (DMEM): Es una modificación del medio basal medium Eagle (BME), contiene una mayor concentración de aminoácidos y vitaminas, así como la adición de antibióticos y la suplementación con suero fetal bovino. Piruvato de sodio 10.0 mL (100 mM) L-glutamina 7.5 mL (200 mM) Penicilina 1.0 mL (1000 X) .
- Ham F12: MEM + Albúmina, Transferrina, Insulina y Piruvato de sodio.

No definidos (con suero o hidrolizados proteicos): tienen componentes cuya composición química y concentración no están determinados.

Como ejemplo tenemos:

- Medios de mantenimiento: células con metabolismo basal (MEM + 2% de suero)
- Medios de crecimiento: activación del ciclo celular (MEM + 10% de suero) (157,158)

2.13 Determinación de la viabilidad celular

Para determinar la viabilidad celular se emplean diferentes métodos mediante dos principios:

1) La incorporación y retención, por parte de las células viables, a través de colorantes fluorescentes como la diacetil fluoresceína, la eosina o de isótopos radiactivos como el cromo (159).

2) La exclusión por células vivas de colorantes vitales como el azul tripán, la eritrosina o la nigrosina; método basado en la propiedad de la permeabilidad selectiva de la membrana plasmática. La pérdida de esta propiedad por parte de las células muertas permite la difusión del colorante al citoplasma, así las células muertas son fácilmente diferenciables de las vivas, ya que al mantener la integridad funcional de sus membranas, al microscopio permanecen incoloras, translúcidas y refringentes (160).

2.14 Recuento celular

Se realiza mediante cámara que contiene un volumen determinado de muestra entre una lámina y una laminilla rígida (cubreobjeto especial) colocada sobre plataformas laterales a una altura establecida (161). La que se usa con mayor frecuencia para cultivos es el hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad con reglilla de Neubauer (figura 8).

La cámara Neubauer consta de 9 cuadrados con lados de 1 mm (área total de recuento = 0.9 mm²), cada uno de los cuales corresponde a un volumen de 0.1 μL. Los cuatro extremos están subdivididos en 16 cuadros pequeños. El cuadro central contiene 25 cuadros, cada uno con un área de 0.04 mm² (0.2 mm x 0.2 mm), a su vez divididos en 16 cuadros más pequeños (Fig. 8) (162).

Para células más grandes de 6 μm y con cultivos relativamente poco concentrados, se aconseja que el recuento se haga en los cuatro cuadros marcados como A, B, C y D, aunque en varios laboratorios se prefiere contar por lo menos un cuadro adicional, seleccionado cada vez al azar. Cuando las células son pequeñas y la concentración de los cultivos es muy alta, es preferible utilizar cinco cuadros menores del cuadro central marcado con X (162).

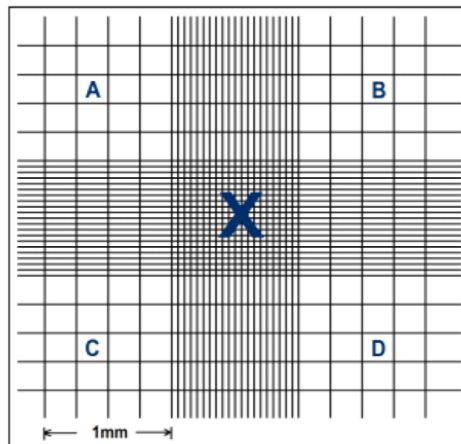


Figura 8. Reglilla de Neubauer de 9 mm² (158)

2.15 Cálculos de recuento celular

Si se contaron todas las células presentes en los 4 cuadros de 1 mm² marcados como A, B, C y D, la concentración celular se calcula de acuerdo a la fórmula:

$$C = N \cdot 10^4 \cdot \text{dil}$$

En donde:

C = cél/mL

N = promedio de células presentes en 1 mm² (0.1 μL)

dil = factor de dilución (cuando se consideró necesario diluir la muestra. Es importante aclarar que si se usó 1mL de muestra y 9 mL de agua sin células, el volumen total es 10 mL y el factor de dilución es = 10. Esta dilución se define como uno en diez -1:10-.

10^4 = factor de conversión de 0.1 μ L a 1 mL

Si las células se contaron en el cuadro central (25 cuadros) considerando solo los 5 cuadros menores del cuadro central marcado con X, la concentración celular se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$C = [(N/4)/10^{-6}] \cdot \text{dil.}$$

En donde:

C = cél/mL

N = promedio de células presentes en los 5 cuadros pequeños del cuadro central

4×10^{-6} = corresponde al volumen de la muestra expresado en cm^3 (mL) sobre el área de los cuadros pequeños la cual equivale a 0.004 mm^3 ($0.004 \mu\text{L}$) ($0.2 \times 0.2 \times 0.1$)

dil = factor de dilución (162)

2.16 Relación dosis-respuesta

El objetivo fundamental de una evaluación dosis-respuesta es el obtener una relación matemática entre la cantidad de sustancia tóxica a la cual un organismo está expuesto y el riesgo de desarrollar una respuesta negativa a esa dosis. Los compuestos tóxicos pueden inducir efectos a través de mecanismos fisiológicos y metabólicos distintos, lo cual se ve reflejado en la forma que adquiere la relación dosis-respuesta (163).

Tomando como base la forma de la curva dosis-respuesta, se pueden dividir a los compuestos tóxicos en dos categorías generales (figura 9):

- Compuestos tóxicos sin umbral o punto a partir del cual se observa un efecto.
- Compuestos tóxicos con umbral o sin un punto claro donde inicie un efecto.

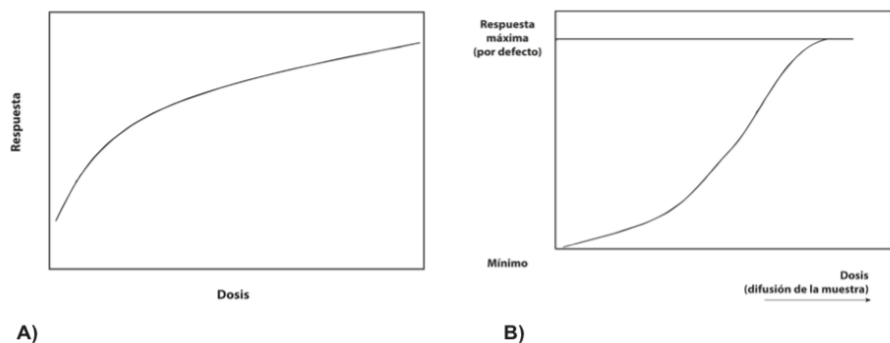


Figura 9. Gráficas de relación dosis-respuesta. a) Sin umbral; b) Con umbral (145,160)

Capítulo 3 Antecedentes

El descubrimiento de los elementos naturales del grupo 6 cromo (Cr), molibdeno (Mo) y tungsteno (W) tuvo lugar a finales del siglo XVIII. Así, el molibdeno no se reconoció como elemento hasta 1778, cuando Carl Wilhelm Scheele hizo reaccionar el mineral molibdenita (MoS_2) con ácido nítrico y obtuvo el óxido del mismo elemento (MoO_3), con propiedades ácidas, y al que llamó "acidum molibdenae", confirmando que el mineral molibdenita no era ni grafito ni galena como se creía hasta entonces. Habría que esperar hasta 1781 para el aislamiento del elemento, cuando Peter Jacob Hjelm consiguió aislarlo calentando el óxido con carbón vegetal en aceite de linaza, si bien, lo obtuvo impurificado con carburo de molibdeno, los resultados no se publicaron hasta 1788 (9). El mérito de obtener molibdeno (Mo) en estado puro se debe a Jons Jacob Berzelius en 1817, al reducir con hidrógeno el trióxido. El nombre de molibdenita, se deriva de la palabra griega para plomo ("molybdos"), debido a la antigua confusión entre cualquier mineral negro suave que podría usarse para escribir (5).

Durante las primeras décadas del siglo XX; en particular, la estructura cristalina de la molibdenita [mineral del disulfuro de molibdeno (MoS_2) considerado el material de referencia dentro de la familia de los dicalcogenuros de metales de transición TMDs] fue determinada por primera vez por Dickinson y Pauling en 1923 (164). Unas décadas más tarde, alrededor de los últimos años de la década de 1960, ya se conocían cerca de 60 TMDs, de éstos al menos 40 de ellos con una estructura laminar. Sorprendentemente, los primeros trabajos experimentales sobre el uso de cintas adhesivas para la producción de capas ultra finas de MoS_2 fueron llevados a cabo por Robert Frindt en el año 1963 (7).

Otro acontecimiento destacado, y también relacionado con lo anteriormente descrito, es el descubrimiento del grafeno en el año 2004 por Novoselov y Geim (2). Sin duda, este hecho ha tenido un gran impacto en la investigación de los dicalcogenuros metálicos de transición (TMDs), estimulando el desarrollo de técnicas bien adaptadas para obtener y trabajar con materiales laminares 2D como el MoS_2 (12).

Wang y colaboradores, en 2014, informaron por primera vez, la preparación de capas con nanoflujos amorfos de MoS_2 , ensambladas mediante nanohojas, fabricadas a través del método de síntesis hidrotermal. Gracias a este estudio, demostraron que el efecto de la temperatura de fabricación a 220 °C mostraba, una prometedora actividad catalítica debido a su baja resistencia y a los numerosos sitios activos en los bordes; el MoS_2 fabricado a esta temperatura mostró que los catalizadores tenían forma de nanoflores con un diámetro de 100-500 nm soportados por nanohojas laminares, con 10 nm de espesor y 100 nm de longitud. Este MoS_2 mostró una actividad excepcional, convirtiéndose en un electrocatalizador alentador para fines prácticos (165).

En años recientes, los QDs de MoS_2 han tomado gran interés, ya que son prometedores nanomateriales debido a su buena biocompatibilidad, cuya toxicidad, ha sido demostrada por muchos grupos de

investigación, al tener un papel importante en la detección (biosensores) y tratamiento de enfermedades al aprovechar su grupo funcional piridoxal (166).

Liu et al. demostraron por primera vez que las nanohojas de MoS₂ funcionalizadas con PEG modificado con ácido lipoico (LA-PEG) podían utilizarse como portadoras de fármacos durante el tratamiento del cáncer (72).

Años más tarde, se descubrió que el disulfuro de molibdeno con óxido de grafeno (GO), (MoS₂/GO) y doxorubicina [un agente quimioterapéutico (DOX)] curaba el cáncer de pulmón (167), este nanocompuesto mostró buenos resultados *in vitro*, e *in vivo*, en pulmón de ratón. Actualmente, se sabe que el Mo forma un enlace con la doxorubicina, lo cual funcionaría para la administración de fármacos (124).

Zhou y sus colaboradores evaluaron la toxicidad de los QDs de MoS₂ preparados por una ruta descendente con el ensayo de metiltiazol (MTT). Sorprendentemente, los QDs de MoS₂ no presentaron citotoxicidad significativa para las células HeLa y las células RAW264 (166). Inclusive a la concentración más alta que fue de 200 µg/mL, reveló baja toxicidad de los QDs de MoS₂ preparados (168). Asimismo, los QDs de MoS₂ modificados con glutatona (GSH) (GSH-MoS₂QDs), sintetizados a partir del proceso solvotérmico en un solo paso del tetratiomolibdato de amonio, mostró una baja toxicidad a partir de los resultados del ensayo MTT. Tras la incubación de células de cáncer de mama murino 4 T1 con GSH-MoS₂QDs durante 24 h, no se observó citotoxicidad evidente ni siquiera a la concentración más alta de 200 µg/mL. Mientras tanto, las especies reactivas de oxígeno y el daño potencial de la membrana celular no fue generado por las nanoestructuras de MoS₂ sintetizados en células de cáncer de mama murino 4 T1, sugiriendo la excelente biocompatibilidad de los QDs MoS₂ (74). Sin embargo, la toxicidad a largo plazo *in vivo* de los QDs de MoS₂ aún debe ser evaluada a mayor profundidad.

En 2013, Zhang y colaboradores aprovecharon por primera vez la gran superficie y propiedades plasmónicas de las nanohojas de MoS₂ para la detección del ácido desoxirribonucleico (ADN) (70), además descubrieron que las nanohojas de MoS₂ podían absorber eficazmente el ADN monocatenario P1 mediante la fuerza de Van der Waals y apagar la fluorescencia del colorante en 5 minutos (169, 170).

Años más tarde, en 2015, este mismo grupo de investigadores descubrió que el sensor basado en nanoplacas de MoS₂ monocapa, también podía aplicarse para la detección multiplexada de ADN utilizando su capacidad de apagar la fluorescencia (171).

Basados en dichos estudios, idearon puntos de MoS₂ protegidos con cisteína y dotados de una elevada actividad catalítica que podrían utilizarse como radioprotectores (172). Las tasas de supervivencia de los ratones reflejan directamente el efecto de protección contra la radiación de los puntos de MoS₂ protegidos con cisteína. Las tasas de supervivencia de los ratones reflejan directamente el efecto de protección contra la radiación de los puntos de MoS₂ protegidos con cisteína. Al explorar el efecto de la radiación externa de la cisteína, se comprobó que el efecto de protección contra la radiación provenía del MoS₂. Además, el ADN total de las células de la médula ósea es un factor importante para la evaluación de la radiación ionizante, y los puntos de MoS₂ protegidos con cisteína pueden reducir válidamente la lesión del ADN causada por la radiación de alta energía. Se puede confirmar que los puntos de MoS₂ protegidos con cisteína tienen la capacidad de reducir el daño de la radiación de alta energía en el ADN (173).

Posteriormente Yang y colaboradores, desarrollaron una plataforma de biosensores mediante la adsorción de isotiocianato de rodamina B (RhoBS) en nanoplacas de MoS₂ para realizar una detección de iones de plata dependiente de la fluorescencia tanto en soluciones como en células (174). Al encontrarse con este sensor basado en MoS₂, los iones de plata se reducían rápidamente a nanopartículas (NPs) de plata, lo que dio lugar a una detección sensible y selectiva de los iones de plata; y lo que fue más importante, es que este sensor no tóxico basado en MoS₂ podía monitorizar la concentración de iones de plata en células vivas de *E. coli*, lo cual indica que podría ayudar a entender el mecanismo antibiótico de los nanomateriales basados en plata (175).

Además de utilizar las nanohojas de MoS₂ para la detección de nucleótidos, proteínas y iones, recientemente, un grupo de investigadores liderado por Wang, construyeron una lámina de péptidos 2D fluorogénica basada en nanohojas de MoS₂ para perfilar tejidos de carcinoma hepatocelular (HCC) y colangiocarcinoma en muestras clínicas (176). Estas láminas de péptidos 2D con fluorescencia atenuada, ha facilitado enormemente la detección de CD47 con una mejor fotoestabilidad y un menor costo, en comparación con las técnicas convencionales que utilizan el ensayo de inmunotinción (174).

En 2018, Weng y su grupo de investigadores, propusieron un dispositivo microfluídico, que detectaba un coronavirus aviar utilizando nanoestructuras 2D de MoS₂ (177). En 2019, Zheng y colaboradores propusieron un sensor FET con MoS₂/óxido de grafeno (MoS₂/GO) para detectar peróxido de hidrógeno (H₂O₂) (178). Se sabe que el H₂O₂, es un biomarcador para muchas enfermedades, como el cáncer y la enfermedad de Alzheimer (179). En ese mismo año, Ding y colaboradores, utilizaron una técnica de síntesis ascendente como la hidrotermal e informaron, sobre la propiedad fotodinámica de los puntos cuánticos del MoS₂, el cual fue capaz de matar células cancerosas con alta eficiencia (179).

Asimismo, en una investigación realizada por Kong y colaboradores, se informó que las nanohojas de MoS₂, podían ser utilizadas como biomarcadores para detectar antígenos prostáticos (171); y, años más tarde, otro grupo de investigadores guiado por Catalán, en 2020, reportaron que las capas de MoS₂, permitían ser empleadas como biosensores para el cáncer de mama basándose en las propiedades del piridoxal del MoS₂ (180).

En el área de odontología, se ha evaluado y registrado el efecto de diferentes lubricantes en los brackets y arcos de ortodoncia (181). Learl y colaboradores, evaluaron el efecto de diferentes lubricantes sobre la fricción entre los brackets y arcos de ortodoncia. Llegaron a la conclusión de que la lubricación desempeña un papel en las fuerzas de fricción entre los brackets de autoligado y los alambres de Cobre-Níquel-Titanio (CuNiTi), y que la saliva artificial a base de mucina y carboxil-metil-celulosa (CMC) constituye una alternativa fiable a la saliva humana natural (120).

Redlich y su grupo de investigación, recubrieron el alambre de acero inoxidable con una película electrodepositada de níquel-fósforo impregnada con nanopartículas inorgánicas similares a los fullerenos de disulfuro de tungsteno (IF-WS₂), introduciendo los alambres de acero inoxidable (SS) en soluciones electrodepositadas de níquel-fósforo (Ni-P) e IF-WS₂ (121). Se realizaron pruebas de fricción que simulaban el funcionamiento de los arcos de alambre con y sin recubrimiento en una máquina Instron y el análisis SEM/EDS de los alambres recubiertos mostró una clara impregnación de las nanopartículas de IF-WS₂ en la matriz de Ni-P. Las fuerzas de fricción medidas en el alambre recubierto se redujeron hasta un 54% (121).

Katz et al. (182) demostró la reducción de la fricción entre los arcos de alambre y los brackets autoligados. El valor de la fricción se redujo y este valor reducido se mantuvo durante todas las pruebas con MoS₂ (183).

Capítulo 4 Diseño de estudio

4.1 Planteamiento del problema

En la última década el MoS_2 ha tomado mayor interés ya que se ha reportado que las nanoestructuras de MoS_2 , tiene un papel en la detección y tratamiento de enfermedades. A medida que se proponen más dispositivos biológicos basados en el MoS_2 , aumenta la preocupación por su toxicidad para las células y los tejidos vivos, por lo que es de suma importancia explorar los efectos citotóxicos del MoS_2 . En el área de odontología, se ha reportado que el uso de nanoestructuras ha beneficiado significativamente las propiedades de distintos materiales, algunos dicalcogenuros metálicos, como es el caso de WS_2 , ha sido utilizado en alambres de ortodoncia, logrando disminuir la fricción, obteniendo que el movimiento dental sea más rápido, sin provocar un daño adverso a la raíz. Por lo que emplear MoS_2 , podría influir significativamente en diversos materiales odontológicos de distintas áreas.

4.2 Justificación

En Odontología, principalmente en el área de Ortodoncia, se han realizado varios estudios enfocados en reducir la fuerza de fricción modificando el diseño de los brackets o utilizando diferentes tipos de aleaciones (184). Dicha reducción podría mejorar tanto el control del anclaje como la dirección del movimiento dental, así como minimizar el riesgo de reabsorción radicular e incluso acortar la duración del tratamiento (119). La síntesis de nanopartículas, similares a los fullerenos ha permitido mejorar notablemente las propiedades de fricción y desgaste en diferentes condiciones de contacto (185). La baja fricción y el desgaste están asociados a la penetración de nanopartículas como WS_2 , ya que a medida que aumenta la carga entre los cuerpos, las nanopartículas se deforman y exfolian gradualmente, dejando nanoplaquetas del material intercalado para cubrir las asperezas de la interfaz y las débiles fuerzas, entre las finas láminas de las nanopartículas exfoliadas, permiten un movimiento de deslizamiento de muy baja fuerza de corte entre los dos cuerpos en contacto (121).

Evaluar el nivel de daño del disulfuro de molibdeno (MoS_2), a nivel celular, buscando mejorar materiales como implantes, prótesis dentales, o en alambres de ortodoncia y con ello, desarrollar recubrimientos de MoS_2 , lo cual enriquecería sus características, tales como la duración en boca, ya que el sulfuro fungirá como un antifriccionante; y en resultados negativos, documentar y hacer referencia de sus cualidades dañinas y evitar su uso.

4.3 Objetivos

4.3.1 General

- Evaluar el efecto citotóxico de la interacción de las nanoestructuras de disulfuro de molibdeno (MoS_2), obtenidas mediante síntesis hidrotermal, con células pluripotenciales como fibroblastos gingivales humanos (HGF) y células pulpares humanas (hPDSC), para su potencial aplicación como biomaterial.

4.3.2 Específicos

1. Obtener nanoestructuras de disulfuro de molibdeno por el método hidrotermal.
2. Determinar la morfología de las nanoestructuras del MoS_2 obtenidas mediante Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM).
3. Determinar las estructuras cristalinas obtenidas del MoS_2 mediante difracción de rayos X (XRD).
4. Caracterizar las nanoestructuras de MoS_2 , mediante espectrofotometría UV-Visible y espectroscopía infrarroja (FTIR).
5. Determinar la temperatura de degradación del MoS_2 mediante un análisis termogravimétrico (TGA).
6. Evaluar el efecto citotóxico de la interacción de las nanoestructuras de disulfuro de molibdeno (MoS_2), con células como fibroblastos gingivales humanos (HGF) y células pulpares humanas (hPDSC)

4.4 Pregunta de investigación

¿Las nanoestructuras de disulfuro de molibdeno (MoS_2) sintetizadas por el método hidrotermal, presentan algún efecto citotóxico al ponerlas en interacción con HGF y hPDSC?

4.5 Hipótesis

Las nanoestructuras de MoS_2 , obtenidas mediante síntesis hidrotermal, no interferirá en el crecimiento y viabilidad de las células mesenquimales (HGF y hPDSC) en cultivo.

Capítulo 5 Metodología

5.1 Tipo de estudio

- Estudio experimental descriptivo *in vitro*.

5.2 Universo o Población de estudio

I. Nanoestructuras de disulfuro de molibdeno (MoS_2)

II. Células criopreservadas pluripotenciales de fibroblastos gingivales humanos (HGF) y células pulpares humanas (hPDSC)

5.3 Variables

5.3.1 Variables dependientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza de la variable	Escala de medición de la variable	Unidad de medición
Citotoxicidad	Se define como los efectos adversos que resultan de la interferencia con estructura, procesos celulares, o ambos, que se suceden en todas las células y son esenciales para el funcionamiento, supervivencia y proliferación celular (152).	Daño celular de HGF y hDPSC, provocado por las nanoestructuras de MoS_2 , examinando las células al microscopio mediante tinción citoquímica, regido bajo la Norma ISO 10993-5.	Cualitativa politómica	Ordinal	Grado y reactividad 0-Ninguna 1-Ligero 2-Leve 3-Moderado 4-Severo

Viabilidad celular	Proporción de células vivas y funcionales existentes en una población celular (159).	Cantidad de HGF y hDPSC vivas, presentes en la población de estudio, evaluadas mediante ensayo MTT.	Cuantitativa continua	Intervalo	Porcentaje (%)
--------------------	--	---	-----------------------	-----------	----------------

5.3.2 Variables independientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza de la variable	Escala de medición de la variable	Unidad de medición
Concentración	Relación que se establece al comparar la cantidad de soluto y el nivel de disolvente presentes en una disolución (186).	Cantidad de nanoestructuras de MoS ₂ , presentes en la solución (agua destilada), desde su dosis mínima 0% a dosis máxima 200µg/mL, presentes en HGF y hDPSC.	Cuantitativa continua	Razón	Microgramos (µg)

5.4 Criterios

5.4.1 Inclusión

- Nanoestructuras de MoS₂ obtenidas por síntesis hidrotermal
- Células viables de Fibroblastos Gingivales Humanos (hGF) proporcionadas por el Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria de la ENES León
- Células viables de células pulpares humanas (hDPSC) por el Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria de la ENES León

5.4.2 Exclusión

- Nanoestructuras con composición química distinta al MoS₂
- Fibroblastos gingivales animales
- Células madre

5.4.3 Eliminación

- Cultivos celulares contaminados
- Muestras que se contaminen durante el proceso de los ensayos citotóxicos

5.5 Método

5.5.1 Síntesis hidrotermal de nanoestructuras de MoS₂

Síntesis 1:

Se prepararon dos soluciones: en una balanza analítica Denver se pesó por separado en vasos de precipitados, 2.72 mg de molibdato de sodio dihidratado (SIGMA-ALDRICH, con ≥99% de pureza) con 36 mL

de agua destilada, y 4.42 mg de tiourea (ACS, Fermont PA Cert, $(\text{NH}_2\text{CSNH}_2)$ con 99.1% de pureza), con 36 mL de agua destilada. Ambas soluciones se colocaron en agitación en una parrilla (Thermo-Scientific) durante 5 min hasta disolver los reactivos. Al concluir, cada uno de los vasos de precipitado fueron cubiertos con papel Parafilm y sonicados de 3 a 5 min para disolver totalmente. Al terminar, se alternó el proceso de agitación-sonicado, tres veces para cada uno de los vasos por 30 min. Al finalizar, se mezclaron ambas soluciones, en un solo vaso de precipitado, y nuevamente se agitó y sonizó la mezcla de reacción hasta observar una homogeneidad total.

Después del tiempo transcurrido se observó un cambio en la coloración de la mezcla de reacción de transparente a ligeramente azul. La mezcla de reacción se colocó en un vaso de teflón para posteriormente ser colocado dentro de un reactor hidrotermal el cual fue sellado cuidadosa y herméticamente para ser llevado al horno (Marca Memmert). Este horno fue previamente precalentado a 220°C (30 min, antes de iniciar el proceso de pesaje), una vez alcanzada la temperatura, el reactor se ingresó al horno, justo en medio, y se dejó reaccionar durante 6 horas.

Para el proceso de enfriamiento, el reactor se dejó reposar a temperatura ambiente durante 8 horas y se retiró del horno. Al abrir el reactor, se observó una sustancia oscura, cuyo interior contenía un polvo de consistencia lodosa color negro, el precipitado obtenido fue transferido a 4 tubos eppendorf de 15 mL, para ser colocados en una centrifuga, y realizar el proceso de lavado a 4000 rpm, alternando agua-etanol durante 15 min cada uno, entre cada disolvente, se realizó un sonicado durante 5 min. El proceso de centrifugación se realizó 4 veces, siendo etanol el último solvente. Al concluir este proceso, se secó el material, vertiendo etanol y dejando en el fondo del tubo las nanopartículas de MoS_2 . Posterior a ello, el tubo eppendorf fue cubierto con papel parafilm, se realizaron unos diminutos orificios, para lograr la evaporación del etanol, dicho proceso duró 7 días.

Se observó un precipitado negro, que fue triturado en un mortero de Ágata durante 10 min, al concluir esto, el precipitado fue pesado. Se obtuvieron 0.989 g de nanoestructuras de MoS_2 y fueron almacenadas en un frasco de vidrio ámbar y se resguardó a temperatura ambiente.

Este proceso se puede observar en la figura 10.

Síntesis 2:

Se realizó una segunda síntesis de MoS_2 , bajo la misma metodología descrita en la síntesis 1, pero cambiando la fuente de amonio esta vez utilizando: 2.224 g de molibdato de amonio (SIGMA-ALDRICH, con reactivo 81-83 % de MoO_3 de base) y 4.384 g de tiourea (ACS, Fermont PA Cert, $(\text{NH}_2\text{CSNH}_2)$ con 99.1% de pureza, como resultado se obtuvo un precipitado negro muy similar al de la síntesis 1 (ver anexo 1, figura 14).



Figura 10. Metodología de síntesis hidrotermal de MoS₂ (Fuente propia)

5.5.2 Ensayo de citotoxicidad

Se realizó por ensayo biológico de colorimetría rápida por medio del método de MTT. Se utilizaron cultivos primarios hDPSC y HGF, las cuáles fueron subcultivadas en platos de 96 pocillos (Nest) con una densidad de 1×10^6 cel/mm³, y se les cambió el medio de cultivo cada 48 horas, hasta lograr una confluencia del 90-100%. Se retiró el medio de cultivo desgastado y fue sustituido por 0.2 mg/mL de MTT (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide, Sigma -Aldrich). Se evaluó la citotoxicidad a las 24 h posterior al contacto de las nanoestructuras de MoS₂ con las células.

Para dicho ensayo, se pesaron 200 µg de nanoestructuras de MoS₂, los cuáles fueron almacenados en un contenedor plástico para ser esterilizadas mediante la exposición con luz ultravioleta durante 15 min (por cada placa fueron necesarios dos contenedores con 200 µg cada uno). Posterior al proceso de esterilización, se agregó 1mL de medio de cultivo (SIGMA-ALDRICH Minimum Essential Medium Eagle DMEM,,) suplementado con 10% de suero fetal bovino, 1% antibiótico penicilina-estreptomicina y 1% de glutamina, en cada contenedor, y se dejó reposar durante 3 min para posteriormente ser llevado a la tina ultrasónica dejando sonicar durante 15 minutos, al concluir ese tiempo, mediante una pipeta fue trasladado el líquido de cada contenedor a la placa de 96 pocillos, y se definió como la fila A el control y en la fila H, se colocó la dosis máxima (200 µg) en todos los experimentos. En la figura 11, se muestra como se estableció el control y dosis máxima en la placa de 96 pocillos.



Figura 11. Placa de 96 pocillos en el que se realizó el ensayo de MTT para evaluar viabilidad celular (Fuente propia).

Por cada experimento se utilizaron 3 placas para realizarlo por triplicado. Al retirar el medio de cultivo, se tomaron fotografías mediante un microscopio para observar la confluencia celular, en los pocillos de cultivo tanto a la fila de control como al de la dosis máxima, para realizar una comparativa. En la figura 12, se observa el procedimiento metodológico del ensayo de viabilidad celular.

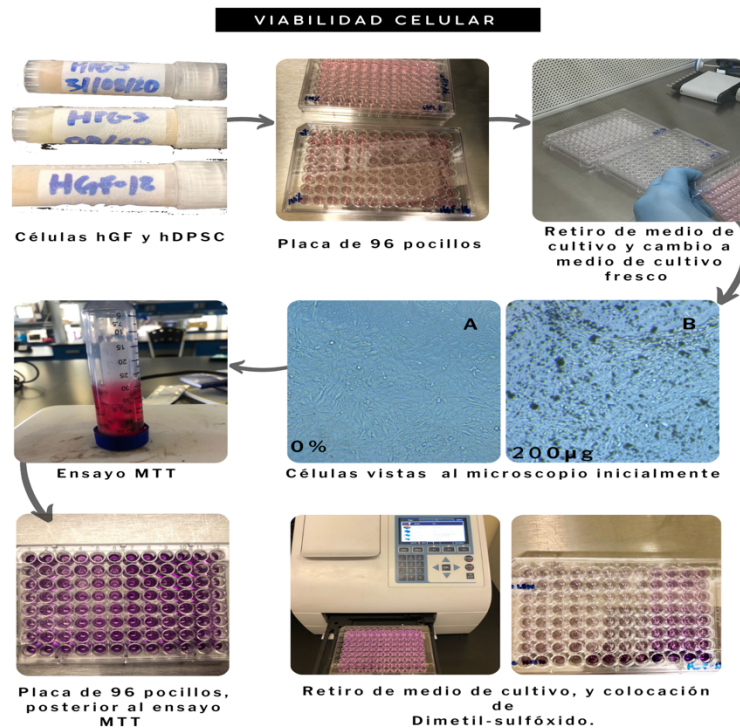


Figura 12. Metodología gráfica de ensayo de viabilidad celular mediante MTT (Fuente propia).

5.5.3 Caracterización de nanoestructuras de MoS₂

5.5.3.1 Microscopia de transmisión electrónica (TEM)

Para conocer la morfología y tamaño de partículas de las estructuras de MoS₂ obtenido se caracterizaron mediante TEM utilizando un microscopio JEOL JEM-1010. Para realizar el análisis se hizo una dilución de 4 mg de nanopartículas de MoS₂ en 10 mL de etanol, hasta la disolución total con 5 min de sonicado, una vez disueltas las nanopartículas con ayuda de una micropipeta de 200 ul se depositaron dos alícuotas de 20 ul sobre una rejilla para TEM, formar/Carbón 200 mesh, y se dejó evaporar el solvente.

5.5.3.2 Análisis por difracción de Rayos-X (DRX)

Los análisis de difracción de rayos X se realizaron con el difractómetro phaser Bruker-D2, configurado con radiación Cu K α (λ = 1,5418 Å) 10 KV y 5 mA. Las muestras se analizaron en un barrido de ángulos de 10° a 60° con una velocidad de 0,02°.

5.5.3.3 Espectrofotometría UV-Visible

Los espectros UV-Vis se obtuvieron en un espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan GO, Finlandia, en el rango de longitudes de onda de 200-1100 nm.

5.5.3.4 Espectroscopía infrarrojo (FTIR)

Los espectros FTIR se realizaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer Frontier FTIR-ATR en el rango de 4000 cm⁻¹- 400 cm⁻¹. El contenido de díadas y tríadas, se determinaron mediante RMN de ¹H (instrumento Varian Mercury 200 MHz) utilizando cloroformo deuterado (CDCl₃) como disolvente y trimetilsilano (TMS) como referencia interna.

5.5.3.5 Análisis termogravimétrico (TGA)

La estabilidad térmica y la temperatura de descomposición se determinaron mediante termogravimétrico (TGA TA Q500); las muestras se midieron bajo atmósfera de nitrógeno y se calentaron a una velocidad de 10 °C/min.

5.5.5 Ensayo de viabilidad celular

Para evaluar la citotoxicidad asociada a las nanoestructuras de MoS₂, se llevó a cabo mediante un ensayo bajo el método colorimétrico del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT).

El ensayo MTT, se realizó dependiente de la dosis, con fibroblastos gingivales humanos (hGF) y células pulpares humanas (hDPSC), las cuales se incubaron con nanoestructuras de MoS₂, previamente esterilizadas durante 15 min, con una incubación de 24 h. La concentración de nanoestructuras de MoS₂, para ambos tipos de células, fue variable de 1.5 µg/mL⁻¹ a 200 µg/mL⁻¹.

Al concluir las 24 horas, se añadió medio de crecimiento celular fresco. La proliferación celular se estudió después de 24 horas de incubación con las nanoestructuras de MoS₂ se realizó mediante microscopía óptica. Las imágenes se tomaron utilizando una cámara montada en el microscopio óptico (Leica-modelo DM IL-LED-200).

Capítulo 6 Resultados

6.1 Síntesis de nanoestructuras

De las dos síntesis obtenidas se decidió utilizar las nanoestructuras de MoS₂ síntesis 1, debido a que las características morfológicas (ver anexo 1) fueron aptas para realizar el procedimiento.

6.1.1 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Es una técnica de microscopía electrónica capaz de producir imágenes de alta resolución de la superficie de una muestra utilizando las interacciones electrón-muestra. Utiliza un haz de electrones en lugar de un haz de luz para formar una imagen; dicho haz, atraviesa la muestra a analizar, que en respuesta reemite fotones y electrones. Estas partículas son analizadas por los diferentes detectores que hacen que sea posible obtener una imagen del interior de la muestra a nivel atómico (187).

La figura 13 muestra las imágenes de TEM de las nanoestructuras de MoS₂. La figura 13 A,B, muestran nanoestructuras en forma de flor de dimensiones 100-200 nm, obtenidas de la síntesis 1. La arquitectura de cada "flor" está formada por varias docenas de láminas en forma de pétalo con un grosor de aproximadamente 19 nm. Las distribuciones de tamaño (diámetro) de las nanoestructuras en forma de flor y de cada laminilla en forma de pétalo se calcularon con el software Image J. Los resultados de la distribución del tamaño de la nanoflor y del grosor de las laminillas en forma de pétalo se corresponden con los informes sobre esferas en forma de flor en 3D (187, 188, 189)

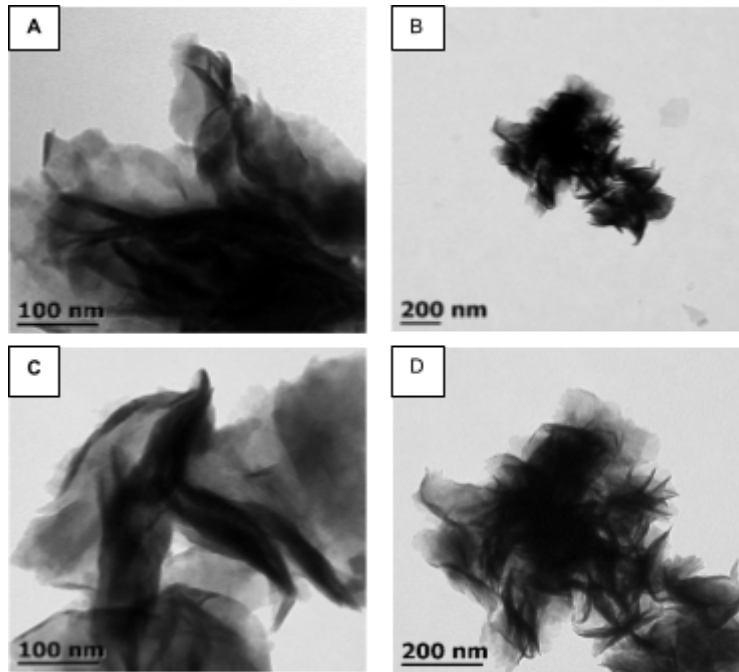


Figura 13. Imágenes TEM de las nanoestructuras de MoS_2 (A-C) molibdato de sodio dihidratado obtenidas de la síntesis uno con tamaño de 100 nm (B-D) imágenes obtenidas de la síntesis uno con tamaño de 200 nm.

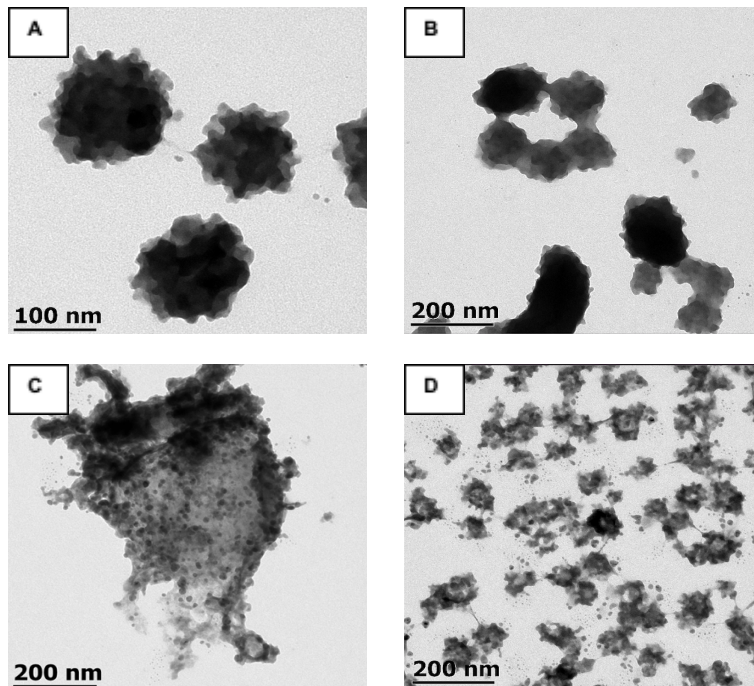


Figura 14. Imágenes TEM de las nanoestructuras de MoS₂ obtenidas de la síntesis dos, con precursor de molibdato de amonio (A-B) con tamaño de 100-200 nm, (C-D) tamaño de 200 nm.

6.1.2 Análisis por Difracción de Rayos-X (DRX)

Es una herramienta analítica que nos permite determinar la geometría tridimensional de materiales cristalinos. Implica el uso de radiaciones electromagnéticas, es decir, rayos X para elaborar el espacio interatómico dentro de un cristal. Un difractograma de RX recoge los datos de intensidad en función del ángulo de difracción (2θ) obteniendo una serie de picos. Los datos más importantes obtenidos a partir de un difractograma son los siguientes: posición, intensidad y perfil de los picos (figura 15) (191).

Se realizó el análisis de difracción por rayos X, y en el difractograma obtenido se observa la fase cristalina del disulfuro de molibdeno, los picos de difracción que presentan las nanoestructuras de MoS₂ por síntesis hidrotermal se ajustan a la fase hexagonal, con la tarjeta cristalográfica del PDF No. 37-1492. La presencia de picos de difracción son una prueba de fase cristalina en las nanoestructuras, los planos cristalográficos a $2\theta = 14.1^\circ, 33.4^\circ, 39.8^\circ$ and 58.9° concuerda con los índices de Miller (h,k,l): [002], [100], [103] y [110]. Se calculó el espacio interplanar para el plano [002] de las nanoestructuras de MoS₂, y fue de 6.28 Å, valor anteriormente reportado para otros autores bajo el mismo rango (192,193).

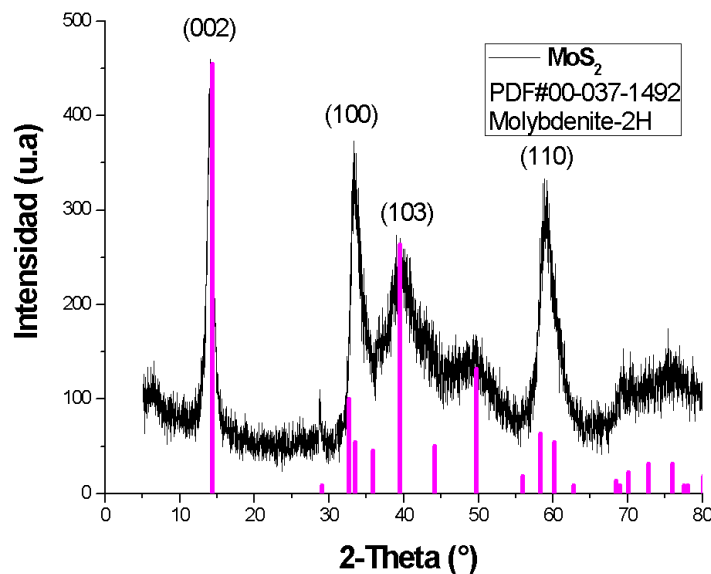


Figura 15. Espectro DRX de nanopartículas de MoS₂

6.1.3 Espectrofotometría UV-Vis

Es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución y la identificación de algunos grupos funcionales. Se basa en la capacidad de absorción de radiación electromagnética que tienen las moléculas, lo que genera transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas, lo que está directamente relacionado con la cantidad de luz absorbida y que depende de la forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma (194).

En la figura 16, se muestra el espectro de absorción UV-Vis de las nanopartículas de MoS₂ en solución, para lo cual se preparó una solución de 4 mg de MoS₂ en 10 ml de etanol, se midió en un rango de longitud de onda de 280 a 800 nm; los espectros muestran un pico de absorción dentro del rango visible con un máximo λ_{max} correspondiente a la banda $\pi-\pi^*$ aproximadamente a 317 nm. Esto es característico de las nanoestructuras de MoS₂ (195).

La energía de la brecha de banda (E_g) se calculó utilizando los gráficos de Tauc Plot, y los valores obtenidos de la brecha de banda fueron 1.75 para las nanoestructuras de MoS₂ en solución, dichos resultados concuerdan con el análisis de DRX.

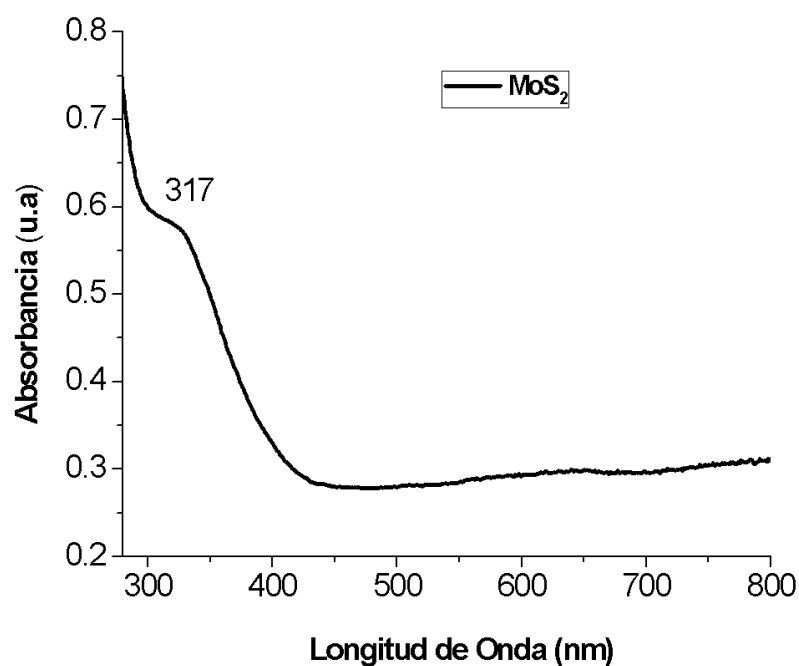


Figura 16. Espectro UV-visible de las nanopartículas de MoS₂

6.1.4 Espectroscopía de Infrarrojo (FTIR)

Esta técnica proporciona un espectro de transmisión de las bandas vibracionales de los grupos funcionales que contienen las sustancias inorgánicas y orgánicas, lo que hace posible realizar la identificación de materiales. El equipo dotado de una sonda con fibra óptica permite el análisis directo de la superficie del objeto de estudio.

El modelo del equipo utilizado fué Mid-FTIR, Remspec con resolución de 10 cm⁻¹ en el intervalo espectral de 900-5000 cm⁻¹ (196).

La figura 17, muestra el espectro de FTIR de las nanoestructuras de MoS₂, se observan las vibraciones de estiramiento asimétricas de C-NH-C a 1129 y 1414 cm⁻¹ correspondientes a la materia prima, así como las

bandas de absorción vibracional a 1633 cm^{-1} y 1100 cm^{-1} que se asocian a la vibración Mo-O y al estiramiento del enlace O-H (190). Las bandas vibracionales del enlace S-S a 909 cm^{-1} y del enlace Mo-S a 656 cm^{-1} se asignaron a la huella dactilar característica del MoS_2 (197, 198).

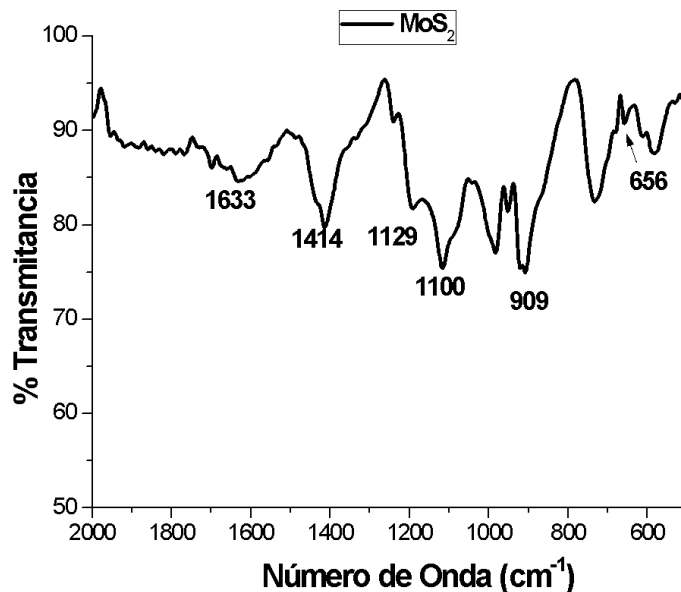


Figura 17.. Espectros FTIR-ATR de los compuestos de MoS_2

6.1.5 Análisis Termogravimétrico (TGA)

Este análisis se utiliza para caracterizar las propiedades físicas y químicas de los materiales, en función de la temperatura en una atmósfera controlada de forma precisa. Mediante esta técnica pueden determinarse: el porcentaje de pérdida de peso por descomposición, por deshidratación, por pérdida de disolvente, por pérdida de plastificante, etc. Además, puede determinarse la estabilidad térmica u oxidativa, la descarboxilación, la pirólisis, y el porcentaje de aditivos (199).

La estabilidad térmica de las nanopartículas de MoS_2 se muestra en la figura 18. Las nanoestructuras de MoS_2 presentaron estabilidad térmica desde la temperatura ambiente a 300°C ; presentaron dos pérdidas de peso con una temperatura máxima de descomposición a 375°C y 602°C , la segunda pérdida de peso se debe probablemente, por un lado, a la degradación de las cadenas de polímero que quedaron atrapadas entre las nanohojas de MoS_2 , las cuales forman estructuras en forma de flor; y por otro lado, se debe a que las nanoestructuras de MoS_2 , presentan una temperatura de descomposición de 602°C . Este último efecto se denomina efecto barrera de "camino sinuoso" del MoS_2 2D, que retrasa el escape de los productos de degradación volátiles y, por tanto, ralentiza el paso inicial de la degradación. Esto se ha observado en casos de nanocompuestos poliméricos basados en arcilla y grafeno (190).

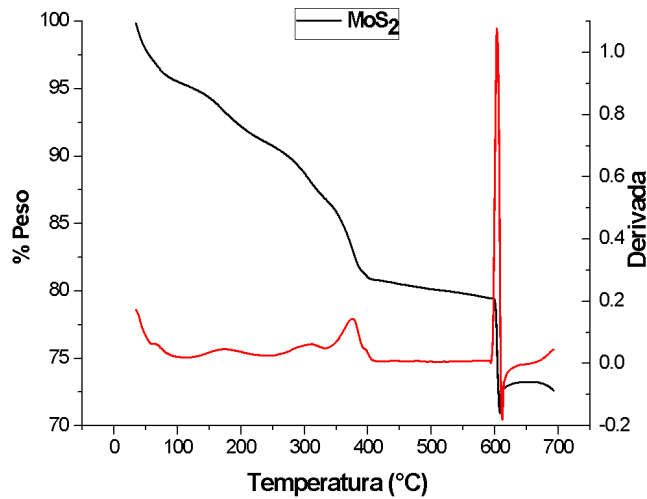


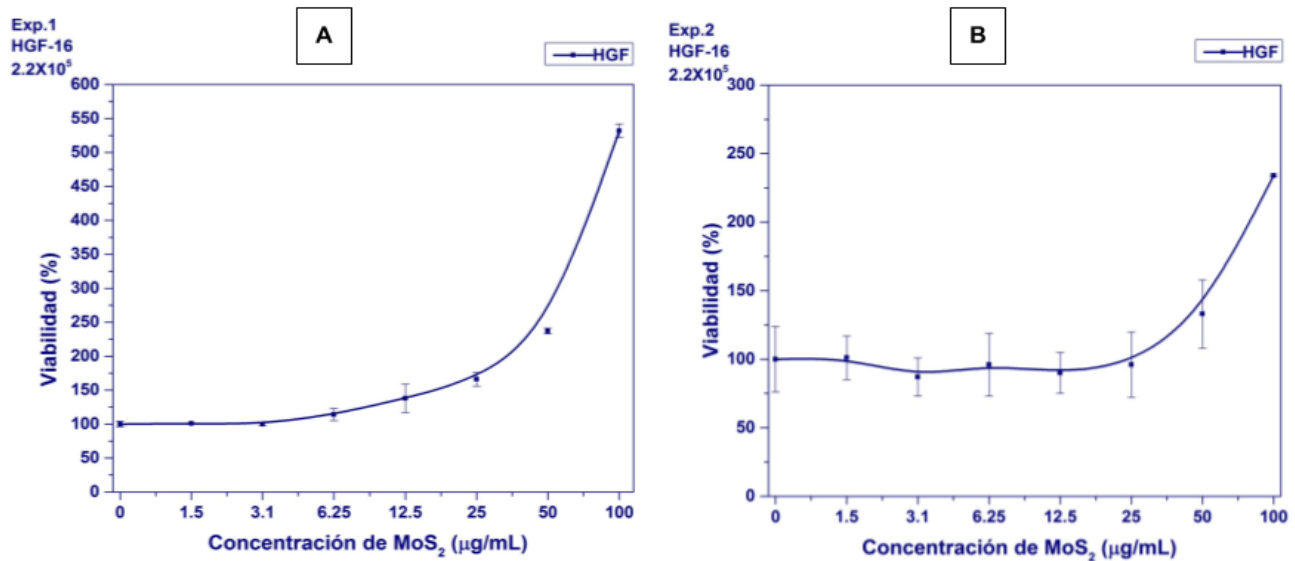
Figura 18. Curvas TGA de MoS₂: A) derivado vs. temperatura y (B) % de peso frente a la temperatura.

6.2 Ensayo de viabilidad celular

6.2.1 Fibroblastos gingivales humanos (hGF)

La figura 19, muestra la tendencia representativa de la relación dosis-respuesta, observada en el experimento correspondiente al efecto de las nanoestructuras de MoS₂ en las células hGF. En este experimento, no se observó ninguna caída significativa en el porcentaje de viabilidad celular en ninguna de las concentraciones de nanoestructuras de MoS₂ que se emplearon. En concreto, se observó una viabilidad celular superior al 100% correspondiente a cada una de las concentraciones mostrando un efecto de hormesis (proceso por el cual la exposición a una dosis baja de un agente químico o bien un factor ambiental, que es dañino a dosis altas, induce una respuesta adaptativa y/o un efecto benéfico en la célula o el organismo) (200), en cada una de las dosis, 3.1 µg mL⁻¹, 6.25 µg mL⁻¹, 12.5 µg mL⁻¹, 25 µg mL⁻¹, 50 µg mL⁻¹, 100 µg mL⁻¹, 200 µg mL⁻¹ de nanoestructuras, respectivamente.

En la figura 19, se observa A) el control, B) fila H, con la dosis máxima a 200 µg mL⁻¹ vista al microscopio.



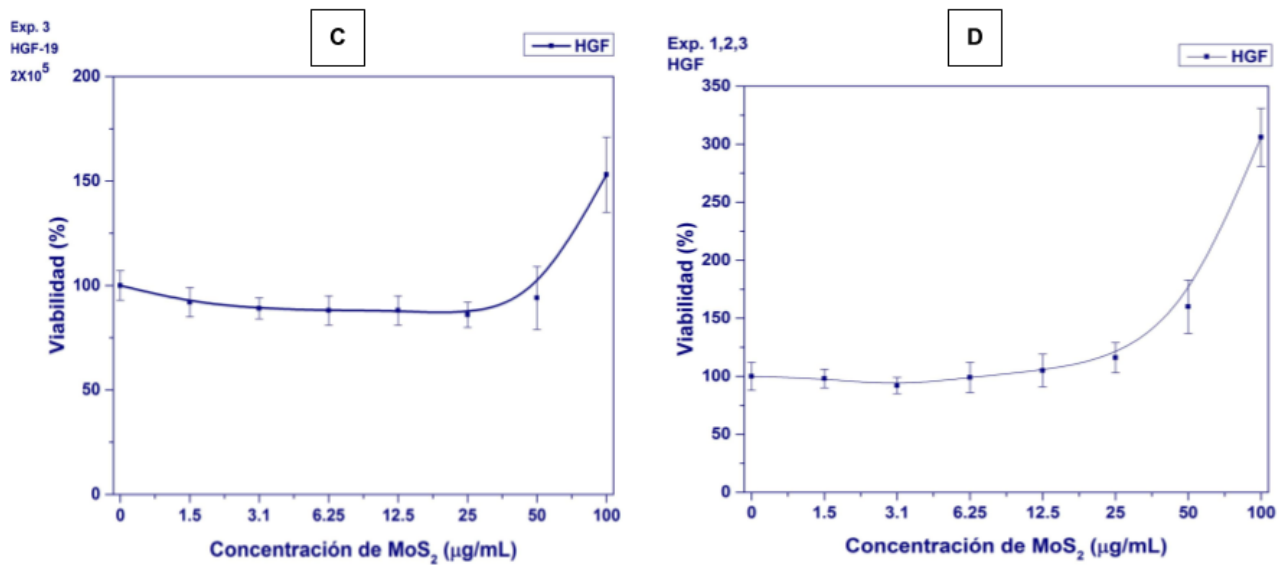


Figura 19. Resultados gráficos de hGF, muestra los 3 ensayos por experimento realizados de manera independiente (A,B,C), conjunto de los 3 ensayos (D)

Al concluir las 24 horas, se añadió medio de crecimiento celular fresco (figura 20). La proliferación celular se estudió después de 24 horas de incubación con las nanoestructuras de MoS₂ se realizó mediante microscopía óptica (técnica para el estudio de la biología celular y molecular, que permite conocer la morfología de las células, la estructura de los tejidos, la localización de determinadas moléculas afectando mínimamente a las características estructurales de las muestras) (200).

Las imágenes se tomaron utilizando una cámara montada en el microscopio Leica-modelo DM IL-LED-200.

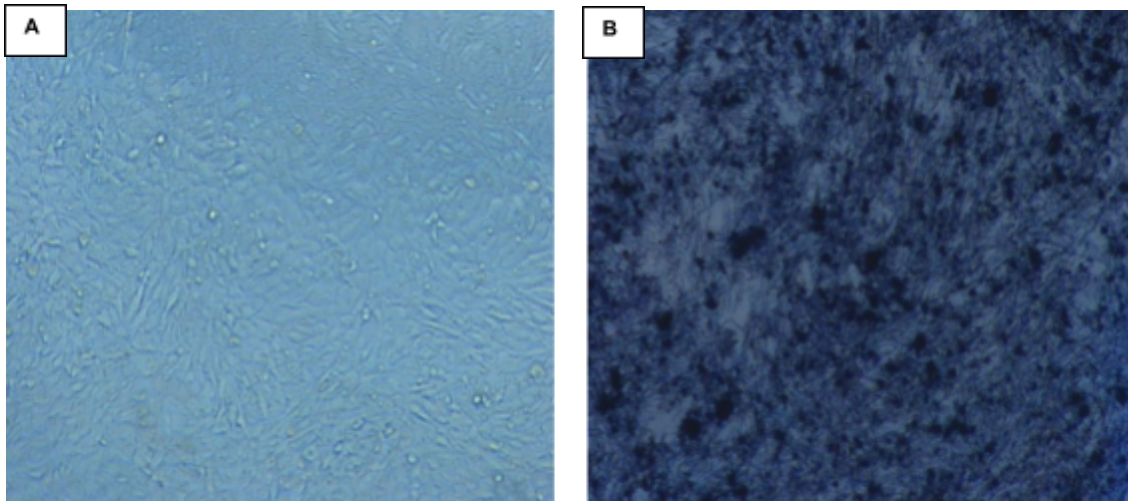


Figura 20. Vista al microscopio A) Control, B) Dosis máxima 200 µg/mL⁻¹

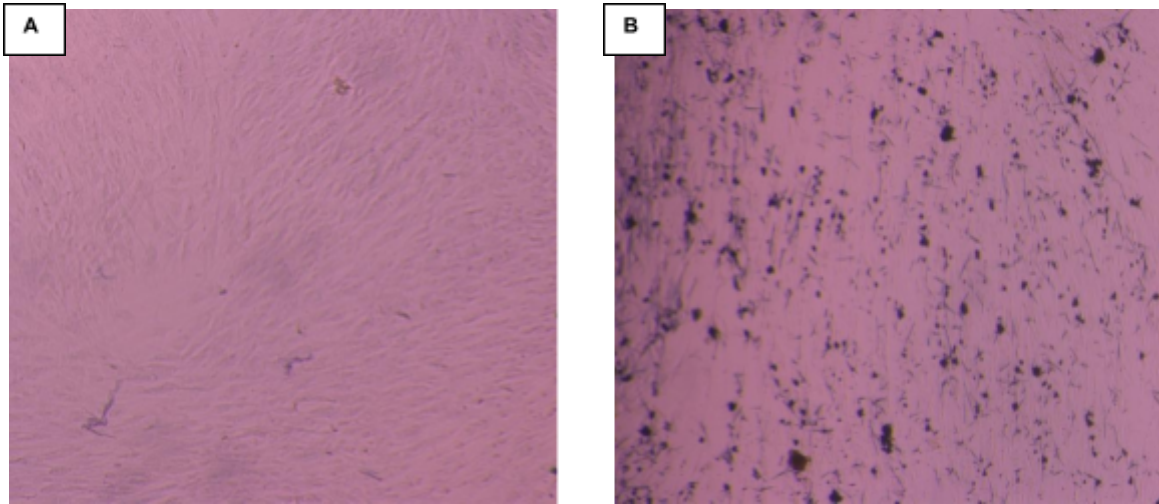


Figura 21. Imágenes de ensayo MTT tras 24 horas de incubación A) Control, B) Dosis máxima $200 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$

Las imágenes microscópicas indican que no se observa una muerte celular evidente tras la incubación con nanoestructuras de MoS₂. La figura 21, indicó claramente que la morfología de las células hGF y la densidad celular no variaron en comparación con el experimento de control, lo que muestra que las nanoestructuras de MoS₂ son muy seguras y tiene una toxicidad insignificante. Además, en la figura 18 se observa que en su dosis máxima ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$ de MoS₂) ayudó a la proliferación de las células tras 24 h de incubación.

5.5.4.2 hDPSC

La figura 22, muestra la tendencia representativa de la respuesta a la dosis observada en el experimento correspondiente al efecto de las nanoestructuras de MoS₂ en las células hDPSC. En este experimento, no se observó ninguna caída significativa en el porcentaje de viabilidad celular en ninguna de las concentraciones de nanoestructuras de MoS₂ que se emplearon. En concreto, se observó una viabilidad celular superior al 100% correspondiente a cada una de las concentraciones mostrando un efecto de hormesis al igual que las células HGF, en cada una de las dosis, 3.1 µg/mL⁻¹, 6.25 µg/mL⁻¹, 12.5 µg/mL⁻¹, 25 µg/mL⁻¹, 50 µg/mL⁻¹, 100 µg/mL⁻¹, 200 µg/mL⁻¹ de nanoestructuras de MoS₂, respectivamente.

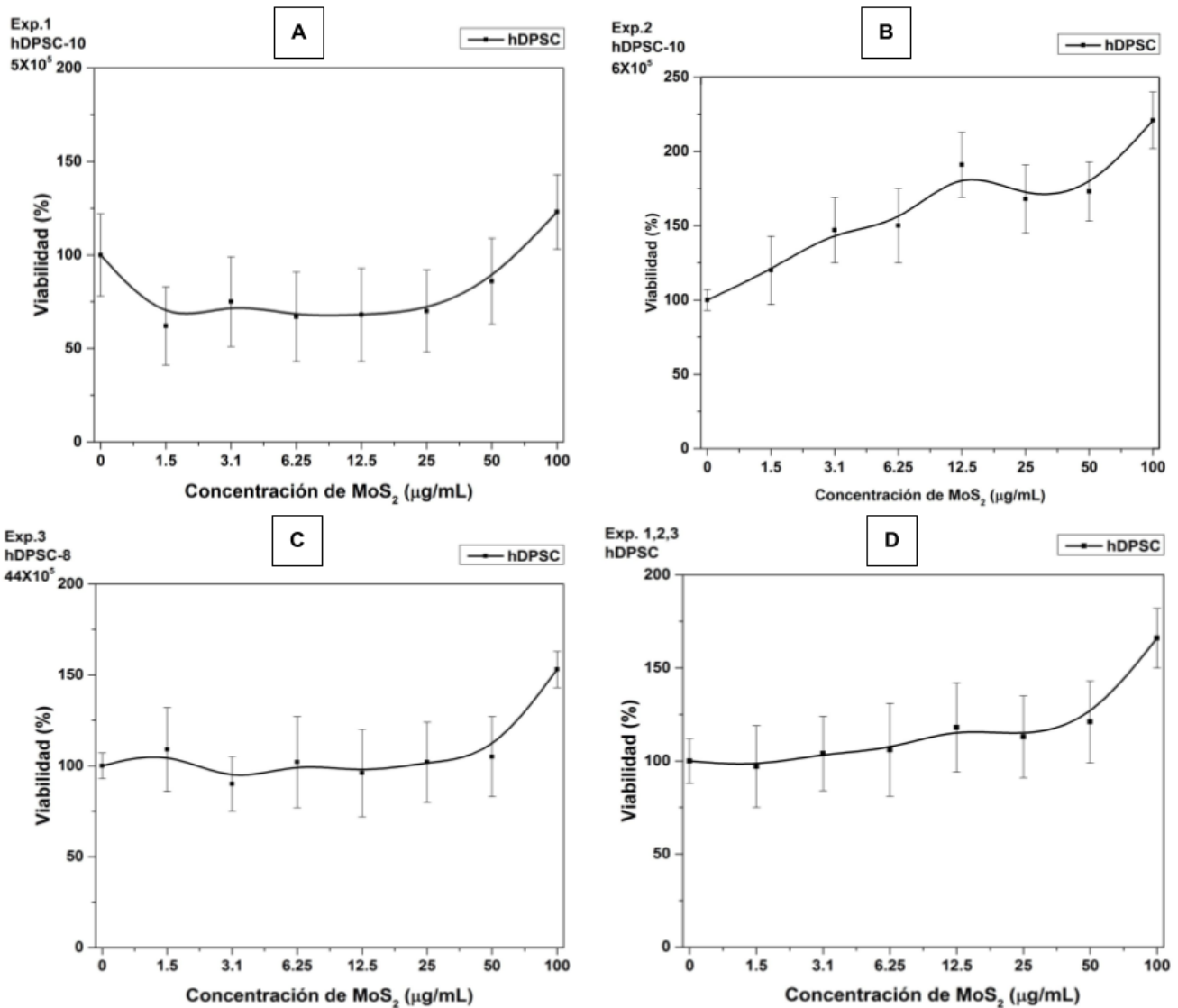


Figura 22. Resultados gráficos de hDPSC, muestra los 3 ensayos por experimento realizados de manera independiente (A,B,C), conjunto de los 3 ensayos (D)

Al igual que con las células de HGF a las 24 horas, se añadió medio de crecimiento celular fresco. Se estudió la proliferación celular tras la incubación con las nanoestructuras de MoS₂.

Las imágenes se tomaron utilizando una cámara montada en el microscopio Leica-modelo DM IL-LED-200. (figura 23).

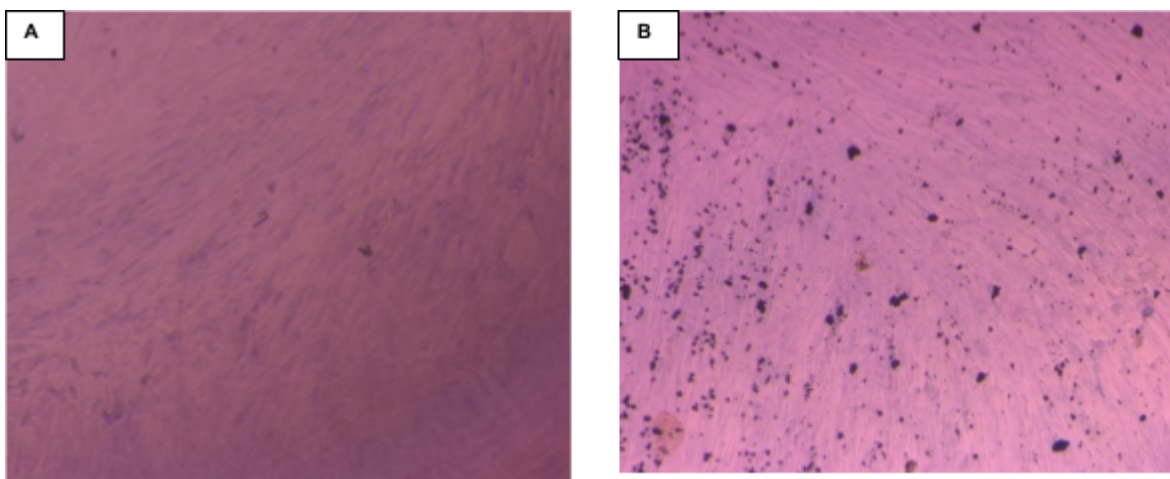


Figura 23. Imágenes de ensayo MTT tras 24 horas de incubación A) Control, B) Dosis máxima 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Las imágenes microscópicas indican que no se observa una muerte celular evidente tras la incubación con nanoestructuras de MoS_2 .

En la figura 22, se puede observar claramente que la morfología de las células hDPSC y la densidad celular no variaron en comparación con el experimento de control, lo que indica que las nanoestructuras de MoS_2 son muy seguras y tiene una toxicidad insignificante también para este tipo de células. Aún, en su dosis máxima, muestra ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$ de MoS_2) al igual que con los fibroblastos, proliferación celular tras 24 horas de incubación; por lo que esta cantidad de nanoestructuras resultó tener efectos citotóxicos insignificantes sobre la viabilidad celular y las células se muestran sanas.

Es evidente que a partir de los experimentos anteriores, las nanoestructuras de MoS_2 sintetizadas en este trabajo han resultado ser materiales muy seguros con una citotoxicidad insignificante, confirmando así su superioridad sobre sus análogos 2D para futuras aplicaciones biológicas. La citotoxicidad menos pronunciada de las nanoestructuras de MoS_2 sintetizadas en el estudio, puede atribuirse a que los bordes de las nanoestructuras de MoS_2 pueden no ser lo suficientemente fuertes como para penetrar o cortar la membrana celular para inducir estrés para provocar la muerte de la célula.

Capítulo 7 Discusión

- En la última década el MoS₂ ha tomado mayor interés ya que se ha reportado previamente que las nanoestructuras de MoS₂, tiene un papel en la detección y tratamiento de enfermedades, el primer reporte fue realizado por Tenne (201), donde explicaba que mediante diversas síntesis, se obtenían diversas morfologías de las nanoestructuras, lo cual le confiere propiedades únicas.
- Akhtar, y colaboradores, presentaron un estudio preliminar *in vitro* que sugiere que las NPs de Mo son capaces de proteger a las células contra los oxidantes, justificando una mayor investigación de las vías redox celulares relevantes para entender el mecanismo detallado del potencial preventivo de citotoxicidad de las NPs de Mo (202).
- J. Wu et al, sintetizaron con éxito plataformas multifuncionales con nanohojas de MoS₂, presentaron un diámetro uniforme de 196 nm, y las emplearon para estudiar una terapia quimio fototérmica sinérgica, que fue significativamente superior a las convencionales, por lo que esta destacada plataforma multifuncional tiene el potencial de ser un sistema de administración de fármacos para la terapia antitumoral multimodal, ya que mostró una buena biocompatibilidad y excelentes propiedades fototérmicas bajo irradiación láser NIR (203).
- Rosli et al, mostró en su estudio que existe un aumento en la absorbancia a medida que aumenta la concentración de nanomateriales. Anteriormente, esta correlación estaría sujeta a un aumento de la cantidad de formazán, ya que se suponía que los nanomateriales reducían los reactivos del ensayo en condiciones libres de células; sin embargo, las investigaciones posteriores de este estudio mostraron que este aumento de la absorbancia no era el resultado de un aumento de la cantidad de formazán (204).
- Shah y colaboradores, sintetizaron nanohojas 2D de MoS₂, estudiaron los efectos citotóxicos de dos líneas celulares (RAMEC y células PC 12), utilizando tres técnicas diferentes (cuantificación celular SRB, ensayo MTT y medición EIS). Los resultados obtenidos a partir de todos estos métodos indicaron claramente que las nanohojas en este trabajo sólo impusieron una citotoxicidad/nanotoxicidad insignificante. A partir de estos resultados, es evidente que las nanohojas de MoS₂ empleadas en este trabajo son superiores a sus homólogas 2D para futuras aplicaciones biológicas. Se considera que la citotoxicidad baja se puede atribuir al hecho de que los bordes de las nanohojas de MoS₂ no fueron capaces de penetrar o cortar la membrana de la célula para inducir un estrés que causara la muerte celular (205).

Como se puede observar, previo a utilizar cualquier nanomaterial para aplicaciones biológicas, es esencial determinar su peligro para las células biológicas, humanas y el medio ambiente, sin embargo podemos observar que el uso de nanoestructuras de MoS₂ obtenidas mediante síntesis hidrotermal, es una opción prometedora para aplicación biológica, ya que además de ser ecológico, existe una proliferación a la interacción con células orales.

Capítulo 8 Conclusiones

- Se logró mediante la síntesis hidrotermal obtener nanoflores de MoS₂ con un tamaño de 100-200 nm, mostrando planos de difracción característicos de MoS₂, con una absorción máxima a 317 nm, siendo este un método sencillo y ecológico.
- Mediante espectrofotometría infrarroja FTIR se logró observar la banda a 648 cm⁻¹, que corresponde a la huella dactilar del MoS₂, corroborando con esto la formación de nanoestructuras de MoS₂.
- Para ambos tipos de células HGF, hDPSC, la interacción de las nanoestructuras con estas, a través de los ensayos de citotoxicidad mostraron a las 24 horas aún en su dosis máxima de 200 µg/mL⁻¹, una viabilidad superior al 100%; presentando un efecto de hormesis, en donde existe una estimulación que indica que a mayor dosis de concentración, hay una interacción mayormente favorable, ya que los gráficos así lo muestran, alcanzando hasta el 500% de absorbancia. Lo cual indica que las nanoflores de MoS₂ benefician significativamente la proliferación celular, por lo que su uso es potencialmente favorable para su aplicación como biomaterial en células orales.

Sin embargo, todavía existen varios desafíos en la preparación y las aplicaciones biológicas, y los estudios aún no son concluyentes aunque estos resultados nos muestran que el MoS₂ obtenido mediante síntesis hidrotermal, podrían tener aplicaciones odontológicas prometedoras que estén en contacto con células orales.

Capítulo 9 Bibliografía

- (1) Zhang, H. Ultrathin Two-Dimensional Nanomaterials. *ACS Nano* 2015, 9, 9451–9469.
- (2) Novoselov, K. S.; Geim, A. K.; Morozov, S. V.; Jiang, D.; Zhang, Y.; Dubonos, S. V.; Grigorieva, I. V.; Firsov, A. A. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. *Science* 2004, 306, 666–669.
- (3) W. Yang, Q. Lyu, J. Zhao, L. Cao, Y. Hao, H. Zhang, Recent advance in near- infrared/ultrasound-sensitive 2D-nanomaterials for cancer therapeutics, *Sci. China Mater.* (2020) 1–32.
- (4) M. Chhowalla, H.S. Shin, G. Eda, L.-J. Li, K.P. Loh, H. Zhang, The chemistry of two-dimensional layered transition metal dichalcogenide nanosheets, *Nat. Chem.* 5 (2013) 263–275.
- (5) C. Anichini, W. Czepa, D. Pakulski, A. Aliprandi, A. Ciesielski, P. Samorì, Chemical sensing with 2D materials, *Chem. Soc. Rev.* 47 (2018) 4860–4908.
- (6) F. Bai, L. Xu, X. Zhai, X. Chen, W. Yang, Vacancy in ultrathin 2D nanomaterials toward sustainable energy application, *Adv. Energy Mater.* 10 (2020), 1902107.
- (7) X. Mu, J.-Y. Wang, X. Bai, F. Xu, H. Liu, J. Yang, Y. Jing, L. Liu, X. Xue, H. Dai, Black phosphorus quantum dot induced oxidative stress and toxicity in living cells and mice, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (2017) 20399–20409.
- (8) Lv, R.; Robinson, J. A.; Schaak, R. E.; Sun, D.; Sun, Y.; Mallouk, T. E.; Terrones, M. Transition Metal Dichalcogenides and Beyond: Synthesis, Properties, and Applications of Single- and Few-Layer Nanosheets. *Acc. Chem. Res.* 2015, 48, 56–64.
- (9) Micro Mineral Virtualis Museum; Sitio web: <http://micromineralmuseum.org/museum/index.php>
- (10) Sh. Yuan, M.-J. Zhang, X. Yang, Z. Mei, Y. Chen & F. Pan, “A novel MoS₂-based hybrid film as the back for high performance thin film solar cells”, *Royal Society of Chemistry Advances*, Volumen 7, 2017, páginas 23415–23421.
- (11) Cetnarowski, G. (2008). Structure and properties of molybdenum disulfide: based inclusion materials (Doctoral dissertation, Simon Fraser University).
- (12) Hussainova, “Nanomaterials: Lectures 10-11” Department of Materials Engineering Faculty of Mechanics from Tallinn University of Technology.
- (13) S. J. McDonnell & R. M. Wallace, “Atomically-thin layered films for device applications based upon 2D TMDC materials”, *Thin Solid Films*, Volumen 616, páginas 482-501.
- (14) E. Lay, K. Chng, Z. Sofer & M. Pumera, “MoS₂ exhibits stronger toxicity with increased exfoliation”, *Royal Society of Chemistry, Nanoscale*, Volumen 6, 2014, páginas 14412–14418.
- (15) J. Prado-Gonjal & E. Morán, “Síntesis asistida por microondas de sólidos inorgánicos”, *Real Sociedad Española de Química* 107, Volumen 2, páginas 129-136.
- (16) R. Zanella, “Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño”, *Mundo Nano, UNAM*, Volumen 5, No. 1, 2012, páginas 1-5.

- (17) Á. Martín & A. Navarrete, "Microwave-assisted process intensification techniques", *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, Volumen 11, 2018, páginas 70-75.
- (18) N. Chaudhary, M. Khanuja, A. & S.S. Islam, "Hydrothermal synthesis of MoS₂ nanosheets for multiple wavelength optical sensing applications", *Sensors and Actuators A*, Volumen 227, 2010, páginas 190-198.
- (19) Gupta, D.; Chauhan, V.; Kumar, R. A Comprehensive Review on Synthesis and Applications of Molybdenum Disulfide (MoS₂) Material: Past and Recent Developments. *Inorg. Chem. Commun.* 2020, 121, 108200.
- (20) Tan C., & Zhang, H. (2015). Two-dimensional transition metal dichalcogenide nanosheet-based composites. *Chemical Society Reviews*, 44(9), 2713-2731.
- (21) (a) P. Yang, Y. Wu, R. Fan, *Int. J. Nanosci.* 2002, 1. (b) C. N. R. Rao, M. Nath, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2003, 1. (c) R. Tenne, A. K. Zettl, *Nanotubes from inorganic materials*, in: *Carbon Nanotubes: Synthesis, Structure, Properties and Applications*, Springer-Verlag, Berlin, 2001
- (22) X. Duan, J. Wang, C. M. Lieber, *Appl. Phys. Lett.* 2000, 76, 1116. (b) X. Duan, C. M. Lieber, *Adv. Mater.* 2000, 12, 298. (c) D. Xu, D. Chen, Y. Xu, X. Shi, G. Guo, L. Gui, Y. Tang, *Pure Appl. Chem.* 2000, 72, 127. (d) D. Xu, Y. Xu, D. Chen, G. Guo, L. Gui, Y. Tang, *Adv. Mater.* 2000, 12, 520.
- (23) J. Zhao, Y. Zhang, Y. Wang, H. Li, Y. Peng, "The application of nanostructured transition metal sulfides as anodes for lithium ion batteries", *Journal of Energy Chemistry*, Volumen 1, 2018, páginas 1-57.
- (24) Lee, J., Mak, K. F., & Shan, J. (2016). Electrical control of the valley hall effect in bilayer MoS₂ transistors. *Nature nanotechnology*, 11(5), 421-425.
- (25) Huo, N., Yang, S., Wei, Z., Li, S. S., Xia, J. B., & Li, J. (2014). Photoresponsive and gas sensing field-effect transistors based on multilayer WS₂ nanoflakes. *Scientific reports*, 4(1), 1-9.
- (26) L. Cheng, J. Liu, X. Gu, H. Gong, X. Shi, T. Liu, C. Wang, X. Wang, G. Liu, H. Xing, PEGylated WS₂ nanosheets as a multifunctional theranostic agent for in vivo dual-modal CT/photoacoustic imaging guided photothermal therapy, *Adv. Mater.* 26 (2014) 1886–1893.
- (27) C. Tan, H. Zhang, Two-dimensional transition metal dichalcogenide nanosheet- based composites, *Chem. Soc. Rev.* 44 (2015) 2713–2731.
- (28) E. Lay, K. Chng, Z. Sofer & M. Pumera, "MoS₂ exhibits stronger toxicity with increased exfoliation", *Royal Society of Chemistry, Nanoscale*, Volumen 6, 2014, páginas 14412–14418.
- (29) Yang X, Li J, Liang T, Ma C, Zhang Y, Chen H, Hanagata N, Su H, Xu M. Antibacterial activity of two-dimensional MoS₂ sheets. *Nanoscale*. 2014 Sep 7;6(17):10126-33. doi: 10.1039/c4nr01965b. PMID: 25042363.
- (30) Fan, J., Li, Y., Nguyen, H. N., Yao, Y., & Rodrigues, D. F. (2015). Toxicity of exfoliated-MoS₂ and annealed exfoliated-MoS₂ towards planktonic cells, biofilms, and mammalian cells in the presence of electron donor. *Environmental Science: Nano*, 2(4), 370-379.
- (31) Donovan, P. J., & Gearhart, J. (2001). The end of the beginning for pluripotent stem cells. *Nature*, 414(6859), 92-97.
- (32) G.Lövestam, H.Rauscher,G.Roebben,B.S.Klüttgen,N.Gibson,J.-P.Putaud,H. Stamm, Considerations on a definition of nanomaterials for regulatory purposes, *JRC Reference report* (2010).

- (33) Fatisson, J., Nadeau, S., Hallé, S., Viau, C., Camus, M., & Cloutier, Y. (2013). A pilot study towards ranking occupational health risk factors emanating from engineered nanoparticles: review of a decade of literature. *International journal of safety and security engineering*, 3(4), 241-264.
- (34) I. Hussainova, "Nanomaterials: Lectures 10-11" Department of Materials Engineering Faculty of Mechanics from Tallinn University of Technology.
- (35) Cademartiri, L., & Ozin, G. A. (2009). *Concepts of nanochemistry*. John Wiley & Sons.
- (36) Mora, I. B. (2013). *Síntesis y caracterización de nanomateriales 0D, 1D y 2D* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Madrid).
- (37) Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9, 1050–1074.
- (38) Pokropivny, V. V., & Skorokhod, V. V. (2007). Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. *Materials Science and Engineering: C*, 27(5-8), 990-993.
- (39) (a) C. N. R. Rao, F. R. S., A. Govindaraj, Nanotubes and Nanowires, RSC Publishing, Cambridge, UK, 2005. (b) M. S. Dresselhaus, Y. M. Lin, O. Rabin, A. Jorio, A. G. S. Filho, M. A. Pimenta, R. Saito, G. G. Samsonidze, G. Dresselhaus, *Materials Science and Engineering C* 2003, 23, 129.
- (40) M. S. Dresselhaus, Y. M. Lin, T. Koga, S. B. Cronin, O. Rabin, M. R. Black, G. Dresselhaus, *Semiconductors and Semimetals: Recent Trends in Thermoelectric Materials Research III*, Academic Press, San Diego, CA, 2001.
- (41) Dubois, S., Piraux, L., George, J. M., Ounadjela, K., Duvail, J. L., & Fert, A. (1999). Evidence for a short spin diffusion length in permalloy from the giant magnetoresistance of multilayered nanowires. *Physical Review B*, 60(1), 477.
- (42) Morales, A. M., & Lieber, C. M. (1998). A laser ablation method for the synthesis of crystalline semiconductor nanowires. *Science*, 279(5348), 208-211.
- (43) X. Duan, J. Wang, C. M. Lieber, *Appl. Phys. Lett.* 2000, 76, 1116. (b) X. Duan, C. M. Lieber, *Adv. Mater.* 2000, 12, 298. (c) D. Xu, D. Chen, Y. Xu, X. Shi, G. Guo, L. Gui, Y. Tang, *Pure Appl. Chem.* 2000, 72, 127. (d) D. Xu, Y. Xu, D. Chen, G. Guo, L. Gui, Y. Tang, *Adv. Mater.* 2000, 12, 520.
- (44) Sarkar, J., Khan, G.G. & Basumallick, A. Nanowires: Properties, applications and synthesis via porous anodic aluminum oxide template. *Bull Mater Sci* **30**, 271–290 (2007).
- (45) (a) P. Yang, Y. Wu, R. Fan, *Int. J. Nanosci.* 2002, 1. (b) C. N. R. Rao, M. Nath, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2003, 1. (c) R. Tenne, A. K. Zettl, *Nanotubes from inorganic materials*, in: *Carbon Nanotubes: Synthesis, Structure, Properties and Applications*, Springer-Verlag, Berlin, 2001.
- (46) Rubio C., Coronas, J. (2016). Aplicaciones energéticas de los materiales laminares. *Boletín del Grupo Español del Carbón*, (41), 23-25.
- (47) Alhendawi, H. M. (2005). *Materiales laminares órgano-inorgánicos para reconocimiento quiral y almacenamiento de gases combustibles* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Madrid).

- (48) Candal, R. J., Bilmes, S. A., & Blesa, M. A. (2001). Semiconductores con actividad fotocatalítica. *Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea*. Editor: Miguel Blesa, Red CYTED VIII-G, 79-101.
- (49) Rodriguez, P. (2001). *Semiconductores*. TECNIBOOK EDICIONES.
- (50) Michalet, X.; Pinaud, F.F.; Bentolila, L.A.; Tsay, J.M.; Doose, S.; Li, J.J.; Sundaresan, G.; Wu, A.M.; Gambhir, S.S. and Weiss, S. (2005): Quantum Dots for life cells, in vivo imaging and diagnostics. *Science*. 307: 538-544.
- (51) Química Inorgánica. E. G. Ríos. Editorial Reverté, S. A. (1994)
- (52) Rochow, E. G. (1981). Química inorgánica descriptiva. Reverté.
- (53) S. Manzeli, D. Ovchinnikov, D. Pasquier, O. V. Yazyev & A. Kis. "2D transition metal dichalcogenides". *Nat. Rev. Mater.* 2, 2017, 17033.
- (54) W. Choi, N. Choudhary, G. H. Han, J. Park, D. Akinwande & Y. H. Lee. "Recent development of two-dimensional transition metal dichalcogenides and their applications". *Mater. Today* 20, 2017, 116-130.
- (55) J. A. Wilson, & A. D. Yoffe. "The transition metal dichalcogenides discussion and interpretation of the observed optical, electrical and structural properties". *Adv. Phys.* 18, 1969, 193-335.
- (56) S. Manzeli, D. Ovchinnikov, D. Pasquier, O. V. Yazyev y A. Kis, "2D transition metal dichalcogenides", *Nature Reviews Materials* 2, 17033 (2017).
- (57) C. M. O. Bastos, R. Besse, J. L. F. D. Silva y G. M. Sipahi, "Ab initio investigation of structural stability and exfoliation energies in transition metal dichalcogenides based on Ti-, V-, and Mo-group elements", *Physical Review Materials* 3, 044002 (2019).
- (58) Adler, I., Gerard, J., Trombka, J. I., Schmadebeck, R., Lowman, P., Blodget, I., & Lamothe, I. (1963). Adams, J. I., 1975, Interpretation of visible and near-infrared diffuse reflectance spectra of pyroxenes and other rock-forming minerals, in *Infrared and Raman spectroscopy of lunar and terrestrial minerals*: New York, Academic Press, p, 91-116. *Adler*, 3, 2157-2178.
- (59) Mak, K. F., Lee, C., Hone, J., Shan, J., & Heinz, T. F. (2010). Atomically thin MoS₂: A new direct-gap semiconductor. *Physical review letters*, 105(13), 136805.
- (60) J.P. Oviedo, S. Kc, N. Lu, J. Wang, K. Cho, R.M. Wallace, M.J. Kim, In situ TEM characterization of shear-stress-induced interlayer sliding in the cross section view of molybdenum disulfide, *ACS Nano* 9 (2015) 1543–1551, <https://doi.org/10.1021/nn506052d>.
- (61) R.M.A.Khalil,F.Hussain,A.M.Rana,M.Imran,G.Murtaza,Comparative Study Of polytype 2H-MoS₂ and 3R-MoS₂ systems by employing DFT, *Phys. E: Low-dimensional Syst. Nanostruct.* 106 (2019) 338–345,
- (62) F.Wypych, T.Weber, R.Prins, Scanning tunneling microscopic investigation of 1T MoS₂, *Surf. Sci.* 380 (1997) 723–727, [https://doi.org/10.1016/S0039-6028\(97\)00015-0](https://doi.org/10.1016/S0039-6028(97)00015-0).
- (63) Z. He & W. Que, "Molybdenum disulfide nanomaterials: Structures, properties, synthesis and recent progress on hydrogen evolution reaction", *Applied Materials Today*, Volumen 3, 2016, páginas 23-56.
- (64) Hui, Y. Y., Liu, X., Jie, W., Chan, N. Y., Hao, J., Hsu, Y. T., & Lau, S. P. (2013). Exceptional tunability of band energy in a compressively strained trilayer MoS₂ sheet. *ACS nano*, 7(8), 7126-7131.

- (65) Zhang, S., Jia, X., & Wang, E. (2016). Facile synthesis of optical pH-sensitive molybdenum disulfide quantum dots. *Nanoscale*, 8(33), 15152-15157.
- (66) L. F. Farrera G., "Introducción a la electroquímica", Material de lectura, Departamento de Físicoquímica, Facultad de Química, UNAM, Volumen 1, páginas 1-8.
- (67) Universidad Huelva, (2011-2013), Museo Virtual de Mineralogía. Huelva, España: http://micromineralmuseum.org/bibliotheca/index.php?id_category=337&controller=category&id_lang=3
- (68) G. Cetnarowsky, Tesis: "Structure and properties of molybdenum disulfide-based inclusion materials" Simon Fraser University Library, 2008, páginas 1-25.
- (69) Bertolazzi, S., Brivio, J., & Kis, A. (2011). Stretching and breaking of ultrathin MoS₂. *ACS nano*, 5(12), 9703-9709.
- (70) N. Chaudhary, M. Khanuja, A. & S.S. Islam, "Hydrothermal synthesis of MoS₂ nanosheets for multiple wavelength optical sensing applications", *Sensors and Actuators A*, Volumen 227, 2010, páginas 190-198.
- (71) Gomez, A. C. (2011). Propiedades electrónicas, mecánicas y ópticas de cristales bidimensionales de espesor atómico (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Madrid).
- (72) T. Liu, Y. Chao, M. Gao, C. Liang, Q. Chen, G. Song, L. Cheng, Z. Liu, Ultra-small MoS₂ nanodots with rapid body clearance for photothermal cancer therapy, *Nano Res.* 9 (2016) 3003.
- (73) S. Zhang, X. Jia, E. Wang, Facile synthesis of optical pH-sensitive molybdenum disulfide quantum dots, *Nanoscale* 8 (2016) 15152.
- (74) Xin Wang, Weiyi Xing, Xiaming Feng, Lei Song, Yuan Hu "MoS₂/Polymer Nanocomposites: Preparation, properties and applications" Taylor & Francis Group, LLC. Pp.1-27 (2017).
- (75) Xiao Lin Li and Ya Dong Li "Formation MoS₂ Inorganic Fullerenes (iFs) by the Reaction of MoO₃ Nanobelts and S" *Chem. Eur.J.*, 9, pp. 2726-2731 (2003).
- (76) Deqiang Yin, Mingxia Wu, Yi Yang, Wanglai Cen, Hui Fang "Chiral vectors-tunable electronic property of MoS₂ nanotubes" *Physical .E* 84, pp.196-201 (2016).
- (77) Yanping Luo, Dekang Huang, Man Li, Xin Xao, Weina Shi, Mingkui Wang, Jun Su, Yan Shen "MoS₂ nanosheet decorated with trace loads of Pt as highly active electrocatalyst for hydrogen evolution reaction" *Acta.* 219, pp. 187-193(2016)
- (78) Li, F., Zhang, X., Hou, J., Xu, M., Luo, X., Ma, D., & Kim, B. K. (1997). Studies on thermally stimulated shape memory effect of segmented polyurethanes. *Journal of Applied Polymer Science*, 64(8), 1511-1516.
- (79) S. Tai, C.Liu, S. Chou, F. Chien, J. Lin, T. Lin "Few-Layer MoS₂ nanosheets coated onto multi-walled carbon nanotubes as a low-cost and highly electrocatalytic counter electrode for dye -sensitized solar cells" *J.Mater. Chem*, 22, 24753-24759 (2012)
- (80) C. Altavill, M.Sarno, P. Ciambelli, A. Senatore, V. Petrone "New 'chimie douce' approach to the synthesis of hybrid nanosheets of MoS₂ on CNT and their anti-friction and anti-wear properties" *Nanotechnology*. 24, pp.1-12 (2013).
- (81) Coogan, A.; Gun'ko, Y.K. Solution-Based "Bottom-up" Synthesis of Group VI Transition Metal Dichalcogenides and Their Applications. *Mater. Adv.* 2021, 2, 146–164.

- (82) Sun, J.; Li, X.; Guo, W.; Zhao, M.; Fan, X.; Dong, Y.; Xu, C.; Deng, J.; Fu, Y. Synthesis Methods of Two-Dimensional MoS₂: A Brief Review. *Crystals* 2017, 7, 198.
- (83) Hofmann H. (2011) Introduction and classification of nanomaterials, páginas 5–12
- (84) Guo, Y., & Li, J. (2020). MoS₂ quantum dots: synthesis, properties and biological applications. *Materials Science and Engineering: C*, 109, 110511.
- (85) Rani, S., Sharma, M., Verma, D., Ghanghass, A., Bhatia, R., & Sameera, I. (2022). Two-dimensional transition metal dichalcogenides and their heterostructures: Role of process parameters in top-down and bottom-up synthesis approaches. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 139, 106313.
- (86) A. Roucoux, J. Schulz, H. Patin. Reduced Transition Metal Colloids: A Novel Family of Reusable Catalysts. *Chem. Rev.* 102, 2002, 3757-3778.
- (87) Leong, S. X., Mayorga-Martinez, C. C., Sofer, Z., Luxa, J., Tan, S. M., & Pumera, M. (2017). A study of the effect of sonication time on the catalytic performance of layered WS₂ from various sources. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(4), 2768-2777.
- (88) Subramani K, Ahmed W (2012) Emerging nanotechnologies in dentistry. Elsevier, New York, pp 1–08, 78–97, 322–389.
- (89) Raorane, D., Pednekar, S., & Dashaputra, R. (2018). *Dental applications of nanotechnology* (p. 277). R. S. Chaughule (Ed.). Springer.
- (90) X. Ren, L. Pang, Y. Zhang, X. Ren, H. Fan, S. Liu, One-step hydrothermal synthesis of monolayer MoS₂ quantum dots for highly efficient electrocatalytic hydrogen evolution, *J. Mater. Chem. A* 3 (2015) 10693.
- (91) G Wei, Y Yan, C Zhang, C Ding, Y Xian, One-step synthesis of water-soluble MoS₂ quantum dots via a hydrothermal method as a fluorescent probe for hyaluronidase detection, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8 (2016) 11272.
- (92) H. Lin, C. Wang, J. Wu, Z. Xu, Y. Huang, C. Zhang, Colloidal synthesis of MoS₂ quantum dots: size-dependent tunable photoluminescence and bioimaging, *New J.Chem.* 39 (2015) 8492.
- (93) Y. Wang, Y. Ni, Molybdenum disulfide quantum dots as a photoluminescence sensing platform for 2,4,6-trinitrophenol detection, *Anal. Chem.* 86 (2014) 7463.
- (94) X. Wang, Q. Wu, K. Jiang, C. Wang, C. Zhang, One-step synthesis of water-soluble and highly fluorescent MoS₂ quantum dots for detection of hydrogen peroxide and glucose, *Sens. Actuators B Chem.* 252 (2017) 183.
- (95) X. Ren, L. Pang, Y. Zhang, X. Ren, H. Fan, S. Liu, One-step hydrothermal synthesis of monolayer MoS₂ quantum dots for highly efficient electrocatalytic hydrogen evolution, *J. Mater. Chem. A* 3 (2015) 10693.
- (96) Y. Wang, J. Hu, Q. Zhuang, Y. Ni, Label-free fluorescence sensing of lead(II) ions and sulfide ions based on luminescent molybdenum disulfide nanosheets, *ACS Sustainable Chem. Eng.* 4 (2016) 2535.
- (97) B. Xu, Y. Su, L. Li, R. Liu, Y. Lv, Thiol functionalized single-layered MoS₂ nanosheet as a photoluminescence sensing platform via charge transfer for dopamine detection, *Sens. Actuators B Chem.* 246 (2017) 380.

- (98) D. Haldar, D. Dinda, S.K. Saha, High selectivity in water soluble MoS₂ quantum dots for sensing nitro explosives, *J. Mater. Chem. C* 4 (2016) 6321.
- (99) Brouwer, Albert M. (31 de agosto de 2011). "Estándares para mediciones de rendimiento cuántico de fotoluminiscencia en solución (Informe técnico IUPAC)" . *Química pura y aplicada* . 83 (12): 2213–2228. doi : 10.1351 / PAC-REP-10-09-31 . ISSN 1365-3075 .
- (100) Braslavsky, SE (1 de enero de 2007). "Glosario de términos utilizados en fotoquímica, 3ª edición (Recomendaciones de la IUPAC 2006)" . *Química pura y aplicada* . 79 (3): 293–465. doi : 10.1351 / pac200779030293 . ISSN 1365-3075 .
- (101) H. Huang, C. Du, H. Shi, X. Feng, J. Li, Y. Tan, W. Song, Water-soluble monolayer molybdenum disulfide quantum dots with upconversion fluorescence, *Part. Part. Syst. Charact.* 32 (2015) 72.
- (102) Mak, K. F., C. Lee, J. Hone, J. Shan, and T. F. Heinz. 2010. Atomically thin MoS₂: A new direct-gap semiconductor. *Phys. Rev. Lett.* 105:136805.
- (103) G. Wei, Y. Yan, C. Zhang, C. Ding, Y. Xian, One-step synthesis of water-soluble MoS₂ quantum dots via a hydrothermal method as a fluorescent probe for hyaluronidase detection, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8 (2016) 11272.
- (104) Jaramillo TF, Jørgensen KP, Bonde J, Nielsen JH, Horch S, Chorkendorff I. Identification of Active Edge Sites for Electrochemical H₂ Evolution from MoS₂ Nanocatalysts. *Science* 2007; 317:100-102.
- (105) Bernardi, M., Palumbo, M., & Grossman, J. C. (2013). Extraordinary sunlight absorption and one nanometer thick photovoltaics using two-dimensional monolayer materials. *Nano letters*, 13(8), 3664-3670.
- (106) Tsai M. L., Su S. H., Chang J. K., Tsai, D. S., Chen, C. H., Wu, C. I., & He, J. H. (2014). Monolayer MoS₂ heterojunction solar cells. *ACS nano*, 8(8), 8317-8322.
- (107) Tongay, S., Zhou J., Ataca C., Liu J., Kang, J. S., Matthews, T. S., & Wu, J. (2013). Broad range modulation of light emission in two-dimensional semiconductors by molecular physisorption gating. *Nano letters*, 13(6), 2831-2836.
- (108) Huo N., Yang S., Wei Z., Li S. S., Xia J., B., Li, J. (2014). Photo responsive and gas sensing field-effect transistors based on multilayer MoS₂ nanoflakes. *Scientific reports*, 4(1), 1-9.
- (109) Late, D. J., Huang, Y. K., Liu, B., Acharya, J., Shirodkar, S. N., Luo, J., & Rao, C. N. R. (2013). Sensing behavior of atomically thin-layered MoS₂ transistors. *ACS nano*, 7(6), 4879-4891.
- (110) Acerce, M., Voiry, D., & Chhowalla, M. (2015). Metallic 1T phase MoS₂ nanosheets as supercapacitor electrode materials. *Nature nanotechnology*, 10(4), 313-318.
- (111) Ochoa E., Pinilla Ibarz J. L., Suelves Laiglesia, I., Cuesta Pedrayes N., Cameán Bao, I. (2015). Síntesis y caracterización electroquímica de materiales híbridos basados en nanofibras de carbono recubiertas de sulfuro de molibdeno.
- (112) Yongming Guo, Jianwei Li. (02 December 2019). MoS₂ quantum dots: synthesis, properties and biological applications. *Materials Science & Engineering C*, 109, 12. 2021, De ScienceDirect Base de datos.
- (113) Moore C, Movia D, Smith R J, Hanlon D, Lebre F, Lavelle E C, Byrne H J, Coleman J N, Volkov Yand Mcintyre J 2017 Industrial grade 2D molybdenum disulphide (MoS₂): an *in vitro* exploration of the impact on cellular uptake, cytotoxicity, and inflammation *2D Mater.* 4 025065.

- (114) Zeng G, Chen T, Huang L, Liu M, Jiang R, Wan Q, Dai Y, Wen Y, Zhang X and Wei Y 2018 Surface modification and drug delivery applications of MoS₂ nanosheets with polymers through the combination of mussel inspired chemistry and SET-LRP *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 82 205–213.
- (115) Usha P T A, Jose S, Nisha A R 2010 Antimicrobial drug resistance – a global concern *Veterinary World* 3 138- 139.
- (116) Panhóca V H, Lopes L B, Paolillo F R and Bagnato V S 2018 Treatment of temporomandibular disorder using synergistic laser and ultrasound application *Oral Health Dental Manag.* 17 1-5.
- (117) Bakhtiyari S, Sabzali S, Rostamzadeh, Basati G 2014 Investigating antimicrobial activity of hydroalcoholic extract and essential oil of *Thymbra spicata* against some pathogenic bacteria *J. Basic Res. Med. Sci.* 1 1-7.
- (118) Zhang Y, Xiu W, Sun Y, Zhu D, Zhang Q, Yuwen L, Weng L, Teng Z and Wang L 2017 RGD-QD-MoS₂ nanosheets for targeted fluorescent imaging and photothermal therapy of cancer *Nanoscale* 9 15835-15845.
- (119) Zhou K, Zhang Y, Xia Z and Wei W As-prepared MoS₂ quantum dot as a facile fluorescent probe for long-term tracing of live cells 2016 *Nanotechnology* 27 275101.
- (120) Ramon-García S, Ng C, Anderson H, Chao J D, Zheng X, Pfeifer T, Av-Gay Y, Roberge M and Thompson C J 2011 Synergistic drug combinations for tuberculosis therapy identified by a novel high-throughput screen *Antimicrob. Agents Ch.* 55 3861–3869.
- (121) Leal RC, Amaral FLB, França FMG, Basting RT, Turssi CP (2014) Role of lubricants on friction between self-ligating brackets and archwires. *Angle Orthod* 84(6):1049–1053.
- (122) Redlich M, Katz A, Rapoport L, Wagner HD, Feldman Y (2008) Improved orthodontic stainless steel wires coated with inorganic fullerene-like nanoparticles of WS₂ impregnated in electroless nickel–phosphorous film. *Dent Mater* 24:1640–1646.
- (123) Hannig M, Kriener L, Hoth-Hannig W, Becker-Willinger C, Schmidt H (2007) Influence of nanocomposite surface coating on biofilm formation in situ. *J Nanosci Nanotechnol* 7:4642–4648
- (124) Monteiro DR, Gorup LF, Takamiya AS, Ruvollo-Filho AC, De Camargo ER, Barbosa DB (2009) The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. *Int J Antimicrob Agents* 34:103–110
- (125) Woods, E. J., Benson, J. D., Agca, Y., & Critser, J. K. (2004). Fundamental cryobiology of reproductive cells and tissues. *Cryobiology*, 48(2), 146-156.
- (126) Mazur, P. (1984). Freezing of living cells: mechanisms and implications. *American journal of physiology-cell physiology*, 247(3), C125-C142.
- (127) Shaw, J. M., Oranratnachai, A., & Trounson, A. O. (2000). Fundamental cryobiology of mammalian oocytes and ovarian tissue. *Theriogenology*, 53(1), 59-72.
- (128) El-Sayed, K.M.F., Paris, S., Graetz, C., Kassem, N., Mekhemar, M., Ungefroren, H., et al., 2015. Isolation and characterisation of human gingival margin-derived STRO-1/MACS and MACS cell populations. *Int. J. Oral Sci.* 7 (2), 80.

- (129) Espagnolle, N., Guilloton, F., Deschaseaux, F., Gadelorge, M., Sensébé, L., Bourin, P., 2014. CD 146 expression on mesenchymal stem cells is associated with their vascular smooth muscle commitment. *J. Cellular Mol. Med.* 18 (1), 104–114.
- (130) Fawzy El-Sayed, K.M., Paris, S., Becker, S.T., Neuschl, M., De Buhr, W., Sälzer, S., et al., 2012. Periodontal regeneration employing gingival margin-derived stem/progenitor cells: An animal study. *J. Clin. Periodontol.* 39 (9), 861–870.
- (131) Fawzy El-Sayed, K.M., Dörfer, C.E., 2016. Gingival mesenchymal stem/progenitor cells: A unique tissue engineering gem. *Stem Cells International*, 2016.
- (132) Fournier, B.P., Larjava, H., Hakkinen, L., 2013. Gingiva as a source of stem cells with therapeutic potential. *Stem Cells Develop.* 22 (24), 3157–3177. <https://doi.org/10.1089/scd.2013.0015>; 10.1089/scd.2013.0015.
- (133) Fournier, B.P., Ferre, F.C., Couty, L., Lataillade, J., Gourven, M., Naveau, A., et al., 2010. Multipotent progenitor cells in gingival connective tissue. *Tissue Eng. Part A* 16(9), 2891–2899.
- (134) Geneser F. *Histología*, 2a. ed., Editorial Médica Panamericana. Argentina 1993; 153.
- (135) Ten Cate AR. *Oral histology: development, structure and function*. 5a. ed., Editorial Mosby Inc., 1998.
- (136) Pitaru S, McCulloch CAG, et al. Cellular origins and differentiation control mechanisms during 8periodontal development and wound healing. *J 2, Periodont Res*, 1994; 29: 81-94.
- (137) S. Gronthos, J. Brahim, W. Li et al., “Stem cell properties of human dental pulp stem cells,” *Journal of Dental Research*, vol. 81, no. 8, pp. 531–535, 2002. 127
- (138) N. Zhang, J.-H. Li, J.-A. Wang, and H.-K. Zhang, “The effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on diabetic cardiomyopathy,” *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, vol. 36, no. 12, pp. 1115–1119, 2008. 128
- (139) L. J. Baume, “The biology of pulp and dentine. A historic, terminologic-taxonomic, histologic-biochemical, embryonic and clinical survey,” *Monographs in Oral Science*, vol. 8, pp. 1– 220, 1980.129
- (140) M. Goldberg and A. J. Smith, “Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biological basis for repair and tissue engineering,” *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, vol. 15, no. 1, pp. 13–27, 2004.130
- (141) C.-C. Chang, K.-C. Chang, S.-J. Tsai, H.-H. Chang, and C.- P. Lin, “Neurogenic differentiation of dental pulp stem cells to neuron-like cells in dopaminergic and motor neuronal inductive media,” *Journal of the Formosan Medical Association*, vol. 113, no. 12, pp. 956–965, 2014.131
- (142) A. A. Volponi, Y. Pang, and P. T. Sharpe, “Stem cell-based biological tooth repair and regeneration,” *Trends in Cell Biology*, vol. 20, no. 12, pp. 715–722, 2010.132
- (143) S. Dimitrova-Nakov, A. Baudry, Y. Harichane, O. Kellermann, and M. Goldberg, “Pulp stem cells: implication in reparative dentin formation,” *Journal of Endodontics*, vol. 40, no. 4, pp. S13– S18, 2014.133
- (144) D. Tziafas, A. J. Smith, and H. Lesot, “Designing new treatment strategies in vital pulp therapy,” *Journal of Dentistry*, vol. 28, no. 2, pp. 77–92, 2000.134

- (145) I. About, "Dentin–pulp regeneration: the primordial role of the microenvironment and its modification by traumatic injuries and bioactive materials," *Endodontic Topics*, vol. 28, no. 1, pp. 61–89, 2013.135
- (146) Arévalo Romero J. A., Páez Guerrero, D. M., Rodríguez Pardo V.M.. Células madre mesenquimales: Características biológicas y aplicaciones clínicas. *Publicación científica en ciencias biomédicas*. 2007; 5 ; 8: 177-184.136
- (147) Nakashima M. Establishment of primary cultures of pulp cells from bovine permanent incisors. *Arch Oral Biol* 1991; 36(9): 655- 663.
- (148) Farlex Partner Medical Dictionary. (2012). Retrieved July 8 2015 from <http://medicaldictionary.thefreedictionary.com/cytotoxicity>
- (149) Miller-Keane (2003). "Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing, and Allied Health" Seventh Edition. <http://medicaldictionary.thefreedictionary.com/cytotoxicity>, Página visitada en Julio 2015.
- (150) Huggins J. (2003) "Alternatives to animal testing: research, trends, validation, and regulatory acceptance". *Alternatives to Animal Experimentation*; Vol. 20:3-61.
- (151) Frewin, C. L., Nezafati, M., Noble, K., & Sadow, S. E. (2016). Cytotoxicity of 3C–SiC Investigated Through Strict Adherence to ISO 10993. In *Silicon Carbide Biotechnology* (pp. 27-61). Elsevier.
- (152) Repetto, M. (2002). "Toxicología Fundamental. Métodos alternativos, Toxicidad in vitro". Sevilla, España: Ediciones Díaz de Santos, Enpses-Mercie Group .Tercera edición; p.303-305.
- (153) Nohra Elsy Beltran Vargas, Claudia Haydee Gonzalez de la Rosa. (Febrero 2016). Técnicas de cultivos celulares e ingeniería de tejidos. Cuajimalpa de Morelos, México, D. F.: ISBN 978-607-28-0688-7.
- (154) Smith MJ, Bodamyali T, Stevens C, Howell JA, Horrocks M, Chaudhuri JB. Human fibroblast culture on a crosslinked dermal porcine collagen matrix. *Biochemical Engineering Journal*. 2004;20:217-22.
- (155) Iso, B. S. E. N., & STANDARD, B. (2009). Biological evaluation of medical devices. *Part, 1*, 10993.
- (156) Ronis M. y Cunny H. (2008) Developmental Effects on Xenobiotic Metabolism. En: *Molecular and Biochemical Toxicology*. Smart R. y Hodgson E. (Eds). 4a ed. Editorial Wiley, New Jersey 257-286.
- (157) Pu F, Rhodes NP, Bayon Y, Chen R, Brans G, Benne R, et al. The use of flow perfusion culture and subcutaneous implantation with fibroblast-seeded PLLA-collagen 3D scaffolds for abdominal wall repair. *Biomaterials*, 31, 4330-40, 2010.
- (158) Soluciones y cultivos celulares. Protocolos y técnicas. <http://www.cultec.com>. 2006. 1-19.
- (159) Hurtado Obregón Kristel Julhie. Respuesta de células T cocultivadas con células mesenquimales frente a mitógenos y aloantígenos en pacientes colombianos con esclerodermia. Trabajo de Grado. Bogotá Colombia. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. 2009.
- (160) Stites Daniel. *Inmunología básica y clínica*, 9o ed. Editorial el Manual Moderno. 1999.
- (161) ALFONSO, E. y Leal, S. (1998). Creación y Mantenimiento de un Cepario de Microalgas. Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de La Habana. Habana, Cuba. 21 págs.
- (162) Vega, B. O. A., Voltolina, D. O. M. E. N. I. C. O. (2007). Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal*, 1, 17-25.

- (163) Loomis A. y Hayes W. (1996) Loomis's Essentials of toxicology; 4a ed. Editorial Academic Press, USA pp. 282.
- (164) Margni, R A. Inmunología e inmunoquímica. 5o ed. Editorial médica Panamericana. 1996.
- (165) R. G. Dickinson & L. Pauling. "The crystal structure of molybdenite". J. Am. Chem. Soc. 45, 1923, 1466-1471.
- (166) Qiu-Yang Xu, Zheng Tan, Xue-Wei Liao, Chen Wang, Recent advances in nanoscale metal-organic frameworks biosensors for detection of biomarkers, Chinese Chemical Letters, 10.1016/j.ccl.2021.06.015, 33, 1, (22-32), (2022).
- (167) S.-C. Chen, C.-Y. Lin, T.-L. Cheng, W.-L.C. Tseng, 6-Mercaptopurine-induced fluorescence quenching of monolayer MoS₂ nanodots: applications to glutathione sensing, cellular imaging, and glutathione-stimulated drug delivery, Adv. Funct. Mater. 27 (2017) 1702452.
- (168) K. Zhou, Y. Zhang, Z. Xia, W. Wei, As-prepared MoS₂ quantum dot as a facile fluorescent probe for long-term tracing of live cells, Nanotechnology 27 (2016) 275101.
- (169) H. Dong, S. Tang, Y. Hao, H. Yu, W. Dai, G. Zhao, Y. Cao, H. Lu, X. Zhang, H. Ju, Fluorescent MoS₂ quantum dots: ultrasonic preparation, up-conversion and down-conversion bioimaging, and photodynamic therapy, ACS Appl. Mater. Interfaces 8 (2016) 3107.
- (170) H.D. Ha, D.J. Han, J.S. Choi, M. Park, T.S. Seo, Dual role of blue luminescent MoS₂ quantum dots in fluorescence resonance energy transfer phenomenon, Small 10 (2014) 3858.
- (171) Kong, R.-M.; Ding, L.; Wang, Z.; You, J.; Qu, F. A Novel Aptamer-Functionalized MoS₂ Nanosheet Fluorescent Biosensor for Sensitive Detection of Prostate Specific Antigen. *Anal. Bioanal. Chem.* **2015**, *407*, 8369–377.
- (172) Wang, Y.; Zhuang, Q.; Ni, Y. Fabrication of riboflavin electrochemical sensor based on homoadenine single-stranded DNA/ molybdenum disulfide-graphene nanocomposite modified gold electrode. *J. Electroanal. Chem.* 2015, 736, 47–54.
- (173) Yang, T.; Yang, R.; Chen, H.; Nan, F.; Ge, T.; Jiao, K. Electrocatalytic activity of molybdenum disulfide nanosheets enhanced by self-doped polyaniline for highly sensitive and synergistic determination of adenine and guanine. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2015, 7, 2867–2872.
- (174) Yang, L.; Wang, S.; Mao, J.; Deng, J.; Gao, Q.; Tang, Y.; Schmidt, O. G. Hierarchical MoS₂/Polyaniline Nanowires with Excellent Electrochemical Performance for Lithium-Ion Batteries. *Adv. Mater.* 2013, 25, 1180–1184.
- (175) Yang, Y., Liu, T., Cheng, L., Song, G., Liu, Z., & Chen, M. (2015). MoS₂-based nanoprobe for detection of silver ions in aqueous solutions and bacteria. *ACS applied materials & interfaces*, 7(14), 7526-7533.
- (176) Ma YH, Dou WT, Pan YF, Dong LW, Tan YX, He XP, Tian H, Wang HY. Fluorogenic 2D Peptidosheet Unravels CD47 as a Potential Biomarker for Profiling Hepatocellular Carcinoma and Cholangiocarcinoma Tissues. *Adv Mater.* 2017 Feb;29(5). doi: 10.1002/adma.201604253. Epub 2016 Nov 21. PMID: 27869342.
- (177) Weng, X., & Neethirajan, S. (2018). Immunosensor based on antibody-functionalized MoS₂ for rapid detection of avian coronavirus on cotton thread. *IEEE Sensors Journal*, 18(11), 4358-4363.

- (178) Zheng, C.; Jin, X.; Li, Y.; Mei, J.; Sun, Y.; Xiao, M.; Zhang, H.; Zhang, Z.; Zhang, G.-J. Sensitive Molybdenum Disulfide Based Field Effect Transistor Sensor for Real-Time Monitoring of Hydrogen Peroxide. *Sci. Rep.* 2019, 9, 759.
- (179) Ding, X.; Peng, F.; Zhou, J.; Gong, W.; Slaven, G.; Loh, K.P.; Lim, C.T.; Leong, D.T. Defect Engineered Bioactive Transition Metals Dichalcogenides Quantum Dots. *Nat. Commun.* 2019, 10, 41.
- (180) Catalán-Gómez, S.; Briones, M.; Cortijo-Campos, S.; García-Mendiola, T.; de Andrés, A.; Garg, S.; Kung, P.; Lorenzo, E.; Pau, J.L.; Redondo-Cubero, A. Breast Cancer Biomarker Detection through the Photoluminescence of Epitaxial Monolayer MoS₂ Flakes. *Sci. Rep.* 2020, 10, 16039.
- (181) Dragomirescu, A. O., Bencze, M. A., Vasilache, A., Teodorescu, E., Albu, C. C., Popoviciu, N. O., & Ionescu, E. (2022). Reducing Friction in Orthodontic Brackets: A Matter of Material or Type of Ligation Selection? In-Vitro Comparative Study. *Materials*, 15(7), 2640.
- (182) Katz A, Redlich M, Rapoport L, Wagner HD, Tenne R (2006) Self-lubricating coatings containing fullerene-like WS₂ nanoparticles for orthodontic wires and other possible medical applications. *Tribol Lett* 21:135–139
- (183) Jung Y C, Cho J W (2010) Application of shape memory polyurethane in orthodontic. *J Mater Sci Mater Med* 21(10):2881–2886
- (184) Thorstenson GA, Kusy RP. Comparison of resistance to sliding between different self-ligating brackets with second-order angulation in the dry and saliva states. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;121:472–82.
- (185) Rapoport L, Leshchinsky V, Lapsker I, Yu Volovik, Nepomnyashchy O, Lvovsky M, Popovitz-Biro R, Feldman Y, Tenne R. Tribological properties of WS₂ nanoparticles under mixed lubrication. *Wear* 2003;255:785–93.
- (186) Vera, M. (2007). Química general. Unidad VII: Termoquímica [Apuntes de clase]. Recuperado de: http://exa.unne.edu.ar/quimica/quimgeneral/temas_parciales/Unidad_07__Termoqu_mica_2007.pdf.
- (187) Ruska E., The Development of the Electron Microscope and of Electron Microscopy, *Rev. Mod. Phys.*, 59, 627-638, 1987.
- (188) Senthilkumar R, Balu M, Ramakrishnan S, Ramamurthy PC, Batabyal SK, Kumaresan D, Kothurkar NK (2019) Molybdenum disulfide/reduced graphene oxide hybrids with enhanced electrocatalytic activity: An efficient counter electrode for dye-sensitized solar cells. *J Electroanal Chem.* 847:113236. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113236>
- (189) Yan H, Qi Z, Chen Q, Zhong Q (2019) Flower-Like MoS₂/CNTs Composite as Efficient Counter Electrode for Quantum Dot Sensitized Solar Cells. *ECS J Solid State Sci Technol.* 8:P77-P82.
- (190) Zhang X, Huang X, Xue M, Ye X, Lei W, Tang H, Li C (2015) Hydrothermal synthesis and characterization of 3D flower-like MoS₂ microspheres. *Mater Lett.* 148:67-70.
- (191) Mazuelas Esteban, Á. (1992). Caracterización por difracción de rayos X de heteroestructuras de semiconductores III-V: aplicación al diseño de superredes tensadas para epitaxias de GaAs-Si.
- (192) Wu J, Lu Y, Feng S, Wu Z, Lin S, Hao Z, Yao T, Li X, Zhu H, Lin S (2018) The Interaction between Quantum Dots and Graphene: The Applications in Graphene-Based Solar Cells and Photodetectors. *Adv Funct Mater.* 28.

- (193) Baby M, Rajeev Kumar K (2017) Structural and optical characterization of stacked MoS₂ nanosheets by hydrothermal method. *J Mater Sci Mater Electron*. 29:4658-67.
- (194) Díaz, N. A., Ruiz, J. A. B., Reyes, E. F., Cejudo, A. G., Novo, J. J., Peinado, J. P., & Fiñana, I. T. (2010). Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. *Universidad de Córdoba*, 1-8.
- (195) Lohwasser RH, Bandara J, Thelakkat M (2009) Tailor-made synthesis of poly(3-hexylthiophene) with carboxylic end groups and its application as a polymer sensitizer in solid-state dye-sensitized solar cells. *J Mater Chem*,. 19:4126-30.
- (196) Berthomieu, C., & Hienerwadel, R. (2009). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynthesis research*, 101(2), 157-170.
- (197) Asok A, Naik AA, Arunachalam S, Govindaraj R, Haribabu K (2019) Microwave assisted synthesis of polythiophene–molybdenum sulfide counter electrode in dye sensitized solar cell. *J Mater Sci Mater Electron*. 30:13655-63.
- (198) Huang H, Du C, Shi H, Feng X, Li J, Tan Y, Song W (2015) Water-Soluble Monolayer Molybdenum Disulfide Quantum Dots with Upconversion Fluorescence. *Part Part Syst Charact*. 32:72-9.
- (199) Finol, D. M., Moncada, A. I., Méndez, J. E., Sánchez, J. L., & Vidal, H. (2002). Caracterización de Pd/CeO₂/La₂O₃-Al₂O₃ mediante las técnicas de Reducción Térmica Programada (TPR), Desorción Térmica Programada (TPD) y Análisis Térmico Gravimétrico (TGA). *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 25(3), 149-157.
- (200) Kaur, J., Singh, M., Dell'Aversana, C., Benedetti, R., Giardina, P., Rossi, M., & Altucci, C. (2018). Biological interactions of biocompatible and water-dispersed MoS₂ nanosheets with bacteria and human cells. *Scientific reports*, 8(1), 1-15.
- (201) R. Tenne, L. Margulis, M. Genut & G. Hodes. "Polyhedral and cylindrical structures of tungsten disulfide". *Nature* 360, 1992, 444-446.
- (202) Akhtar, M. J., Ahamed, M., Alhadlaq, H. A., Alshamsan, A., Khan, M. M., & Alrokayan, S. A. (2015). Antioxidative and cytoprotective response elicited by molybdenum nanoparticles in human cells. *Journal of colloid and interface science*, 457, 370-377.
- (203) Wu, N., Yu, Y., Li, T., Ji, X., Jiang, L., Zong, J., & Huang, H. (2016). Investigating the influence of MoS₂ nanosheets on *E. coli* from metabolomics level. *PloS one*, 11(12), e0167245.
- (204) Rosli, N. F., Latiff, N. M., Sofer, Z., Fisher, A. C., & Pumera, M. (2018). In vitro cytotoxicity of covalently protected layered molybdenum disulfide. *Applied Materials Today*, 11, 200-206.
- (205) Shah, P., Narayanan, T. N., Li, C. Z., & Alwarappan, S. (2015). Probing the biocompatibility of MoS₂ nanosheets by cytotoxicity assay and electrical impedance spectroscopy. *Nanotechnology*, 26(31), 315102.

