

<i>Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación</i>	8	71-81	Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir	Valencia (España)	ISSN 1888-8550
--	---	-------	---	-------------------	----------------

El grafeno y sus derivados en la ingeniería tisular

Fecha de recepción y aceptación: 27 de diciembre de 2015, 30 de enero de 2016

Eric Felli¹, Edgar Victoria Martínez¹, Alberto José Campillo Fernández², Ángel Serrano Aroca^{1*}

¹ Departamento de Ciencias Aplicadas y Tecnológicas. Facultad de Veterinaria y Ciencias Experimentales. Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir.

² Center for Biomaterials and Tissue Engineering, CBIT. Universitat Politècnica de València.

* Correspondencia: Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir. Facultad de Veterinaria y Ciencias Experimentales. Departamento de Ciencias Aplicadas y Tecnológicas. Calle Guillem de Castro, 94. 46001 Valencia. España. *E-mail*: angel.serrano@ucv.es



RESUMEN

El grafeno y sus derivados forman parte de una nueva era de nanomateriales con un futuro muy prometedor en el área biomédica de la ingeniería tisular, debido a que la mayor parte de los biomateriales carecen de las propiedades adecuadas para su uso como soportes altamente porosos (*scaffolds* en inglés) que puedan simular la función de la matriz extracelular en la regeneración de tejidos. Se ha demostrado que el relativamente nuevo material grafeno, premio Nobel 2010, posee propiedades únicas muy superiores a las de cualquier otro material, como su gran resistencia mecánica (doscientas veces superior a la del acero), excelente conductividad térmica y eléctrica, etc. Por lo tanto, este material podría solucionar muchos de los problemas encontrados en la fabricación de *scaffolds* en ingeniería tisular en el futuro. De este modo, en esta revisión se muestra la familia de los grafenos y se pretende dar una idea del avance realizado hasta la fecha en este campo de investigación.

PALABRAS CLAVE: grafenos, ingeniería tisular, biomateriales, métodos de producción convencionales y verdes.

ABSTRACT

Graphene and its derivatives are part of a new era of nanomaterials with very promising future in the biomedical field of tissue engineering due to most biomaterials lack of suitable properties to be employed as highly porous scaffolds simulating the extracellular matrix function in tissue regeneration. It has been shown that the relatively new material graphene, Nobel Prize in 2010, has unique properties like its high mechanical strength (two hundred times stronger than steel), excellent thermal and electrical conductivity, etc. Thus, this material could solve many of the problems encountered in the manufacture of scaffolds for tissue engineering in the future. In this way, this review shows the graphene family materials and the progress achieved to date in this field of research.

KEYWORDS: graphenes, tissue engineering, biomaterials, conventional and green production methods.

INTRODUCCIÓN

La ingeniería tisular es una rama de la bioingeniería que combina conocimientos de biología, ciencia de materiales, ingeniería y medicina. Este campo de investigación consiste en cultivar células en un *scaffold* (soporte o andamio en inglés) compuesto de material sintético o natural que simula la función de matriz extracelular para que el tejido madure *in vitro* y el constructo sea posteriormente implantado en el lugar anatómico apropiado como una prótesis. De este modo, se puede conseguir que, con el tiempo, el tejido u órgano dañado se regenere a la vez que el soporte vaya siendo eliminado del cuerpo [1].



Mediante esta relativamente nueva disciplina se espera que en el futuro sea posible cultivar órganos completos para sustituir los dañados accidentalmente o por una enfermedad, ya que cada día fallecen un número elevado de personas debido a la falta de donantes. Además, la ingeniería tisular presenta una gran ventaja respecto a los trasplantes de órganos porque cuando se cultivan células, estas se suelen tomar del propio paciente, con lo que se eliminan las complicaciones de la respuesta de rechazo inmunológico.

Los materiales utilizados para el cultivo de células deben ser biorreabsorbibles y biocompatibles, pero inertes, ya que la respuesta inmunológica del cuerpo a implantes de cualquier tipo es crucial. De hecho, para tener éxito en la regeneración de tejido, las propiedades del soporte poroso tridimensional donde las células crecen son vitales. El soporte debe consistir en un material que sea reabsorbido en el cuerpo en el tiempo conveniente, lo suficientemente lento para permitir la formación de nuevo tejido pero también lo suficientemente rápido para que no impida el crecimiento del tejido con la configuración correcta, sin dañar el cuerpo de ningún modo.

Los materiales de soporte deben tener una estructura porosa interconectada para permitir el paso de los nutrientes y los desperdicios metabólicos desde las células. Además, deben de ser lo suficientemente rígidos para mantener su forma pero también deben poseer un poco de flexibilidad. El diseño de estos materiales –con una alta porosidad interconectada pero que puedan soportar el crecimiento de las células manteniendo su estructura y que cumplan todos los requisitos mencionados– resulta muy complejo y objeto de patente de muchos grupos de investigación [2].

Con el objetivo de encontrar un material compatible con los tejidos humanos, muchos centros de investigación de todo el mundo están intentando utilizar el grafeno (premio Nobel del 2010) debido a que está formado por carbono, elemento básico en la composición de los seres vivos; es un material con una resistencia doscientas veces superior a la del acero; su estructura se presenta en forma de láminas del grosor de un átomo, lo que le otorga gran flexibilidad; es estable debido a que los enlaces entre las moléculas son resistentes; tiene la propiedad de hacer reacción química con otras sustancias para producir gran diversidad de compuestos, y se ha demostrado que es biocompatible, lo que mejora la adherencia celular de osteoblastos y células mesenquimales [3]. Todas estas propiedades únicas que posee este material hacen que tenga un futuro muy prometedor como refuerzo de *scaffolds* porosos biocompatibles que carecen de las propiedades mecánicas adecuadas [4-12].

Los recientes descubrimientos en la Universidad de Manchester en la lucha contra el cáncer han demostrado que el óxido de grafeno es efectivo en la reducción de seis tipos de tumores (mama, páncreas, pulmón, cerebral, ovarios y próstata) y no es tóxico para las células sanas [13], lo que hace más prometedor todavía el uso de este material en el campo biomédico.

MÉTODOS CONVENCIONALES DE PRODUCCIÓN DE GRAFENO

Existen actualmente métodos para producir grafeno y sus derivados a nivel industrial de alta calidad, pero los costes y el tiempo de producción son muy elevados todavía. Los más importantes son la exfoliación mecánica y química, la deposición química de vapor utilizando catalizadores metálicos y la técnica de crecimiento epitaxial mediante la deposición química de vapor o CVD (de sus siglas en inglés *Chemical Vapor Deposition*) [14].

En la exfoliación mecánica, el grafeno es obtenido a partir del grafito, que es un conjunto de monocapas de grafeno unidas por fuerzas de van der Waals. Este método se basa en producir una fuerza que sea mayor de las que hay entre las dos monocapas y hacer que los estratos se separen. Dicha fuerza puede ser perpendicular al plano del grafito, como en el caso de la exfoliación utilizando cinta adhesiva [15, 16], o puede ser lateral, produciendo un movimiento paralelo entre los estratos de grafeno.

La exfoliación química se utiliza actualmente en la industria debido a que puede producirse en gran cantidad pero con el inconveniente de que la calidad obtenida por este método no es óptima, ya que se produce un grafeno con muchas imperfecciones y contaminantes. Esta técnica consiste en exfoliar el grafito con disolventes químicos seguido de una sucesiva sonicación. El disolvente utilizado penetra entre los planos del grafito y lo hincha, con lo que se amplía la distancia entre ellos. De este modo, cuando empieza el proceso de sonicación, los planos del grafito se separan y se quedan en este estado a causa de la presencia del disolvente; finalmente se consiguen aislar mediante una ultra-centrifugación por gradiente de densidad [17].



La técnica CVD es una metodología física para producir grafeno mediante la descomposición de hidrocarburos como fuente de carbono que se depositan sobre un sustrato metálico y producen una película de grafeno. Esta técnica permite producir un grafeno con pocos defectos o contaminantes y al mismo tiempo puede sintetizar planos de grafeno de algunos centímetros cuadrados [18].

Existen otros métodos alternativos de producción de grafeno. Entre todos ellos, cabe destacar la reducción química [19-21], electroquímica [22, 23] y térmica [24] de óxido de grafeno o GO (de sus siglas en inglés *Graphene Oxide*).

MÉTODOS VERDES DE PRODUCCIÓN DE GRAFENO

Los métodos convencionales de producción de grafeno presentan el problema de que son nocivos para el medio ambiente y de que económicamente no siempre son rentables cuando se escalan a nivel industrial. Por este motivo, cada vez resulta más importante buscar un método alternativo de producción que sea más sostenible, es decir, mediante un proceso verde que no utilice productos tóxicos, como hidracina, soluciones alcalinas o altas temperaturas, que llevan a un consumo elevado de energía. De este modo, recientemente se ha conseguido obtener grafeno a partir de GO mediante *Escherichia coli* [25]. Este método verde cumple todos los objetivos de un proceso sostenible, ya que la biomasa de *E. coli* reduce el GO a 37 °C en medio acuoso y no se necesita utilizar hidracina. Además, la utilización de bacterias para la producción de grafeno ha demostrado propiedades muy interesantes del GO, como la inhibición de la proliferación de bacterias en la superficie del grafeno, siendo el GO biocompatible con las bacterias [26].

Con la misma filosofía de química verde, se ha conseguido reducir óxido de grafeno con *Shewanella* en condiciones anaeróbicas [27] y aeróbicas [28]. Las bacterias marinas del género *Shewanella* representan una familia importante de microorganismos que pueden transferir electrones fabricados a nivel metabólico a un sustrato que pueda aceptarlos [29, 30].

En otro trabajo de química verde anterior, se utilizaron microorganismos obtenidos a través de distintas extracciones a partir de los sedimentos del borde del río de la ciudad de Toyohashi, utilizando un medio que contiene varios minerales y un sustrato orgánico bajo condiciones anaeróbicas [31]. Con este método, las láminas de GO se enlazan en un sustrato de silicona y son puestas en el cultivo en botellas con suero en incubación a 28 °C durante tres días en ausencia de luz. Posteriormente, los cultivos son lavados con agua MiliQ y secados. El proceso de reducción ocurre cuando los electrones del acetato de sodio que estaban en el cultivo pasan al GO a través de la respiración de los organismos que estaban en la disolución.

Finalmente, como otro método responsable con el desarrollo sostenible, cabe destacar el método conseguido en el 2011 para reducir el GO exfoliado a través del té verde, aprovechando la capacidad reductora de los anillos aromáticos de los polifenoles del té (TP) [32]. La fuerte interacción entre los TP y el GO garantiza una buena dispersión tanto en agua como en varios disolventes orgánicos. Los TP, que representan entre el 10 y 15% de todos los compuestos del té verde, son completamente biocompatibles y biodegradables. En este método, el polvo de grafito se oxida con una disolución concentrada de ácido sulfúrico y KMnO_4 mediante una versión modificada del método de Hummers [33, 34] y se prepara la disolución de té verde con agua desionizada que se hierve para posteriormente realizar una filtración. Por último, se añaden 50 mg de GO y se somete a sonicación. Los excesos de TP se quitan con lavados y mediante filtración, y se obtiene así GO reducido por los polifenoles del té verde.

Se han realizado también muchos estudios con diferentes métodos verdes alternativos para reducir el GO, como por ejemplo mediante la vitamina C [35, 36] o las proteínas del suero bovino de albúmina [37], y un método que realmente ha llamado la atención de la comunidad científica ha sido el método descubierto por J. Coleman en el Centro para Investigación en Nanoestructuras y Nanodispositivos Adaptivos (CRANN) del Trinity College de Dublín, que consiste en producir láminas de grafeno utilizando una batidora, polvo de grafito, agua y detergente [38]. En este método se requiere una potente batidora de 400 vatios para mezclar medio litro de agua y 10-25 mililitros de detergente con 20-50 gramos de polvo de grafito. Las proporciones de los reactivos varían según el tipo de grafito empleado. Mediante este novedoso y económico método se ha conseguido producir 5 gramos de grafeno por hora, mientras que los métodos precedentes tenían una media de medio gramo por hora aproximadamente.

El método de producción de grafeno por reacción electroquímica es un método también considerado de química verde, que se hace en un solo paso a nivel experimental, es muy simple y se produce en condiciones ambientales, con lo que



se evita la utilización de disolventes volátiles o agentes reductores [39]. Este método puede ser aplicado a través del uso de un potencial catódico o anódico. La oxidación anódica se produce a través de la aplicación de un potencial positivo al ánodo de grafito para oxidarlo, los aniones se intercalan entre las láminas internas del grafito y se produce una expansión estructural que lleva a la ruptura y la formación de láminas de grafeno [40]. Sin embargo, en la reducción catódica, los elementos intercalados del grafito son los átomos de hidrógeno que actúan con el mismo mecanismo, intercalando y formando láminas de grafeno que en este caso no son oxidadas. Este tipo de proceso tiene algunas ventajas, ya que puede producirse grafeno puro [41-44] sin los defectos que produce la oxidación anódica con la generación de defectos sp^3 irreversibles y debido a que los contaminantes pueden ser fácilmente eliminados mediante lavado y posterior evaporación de agua. Además, el grafeno se puede funcionalizar a través de la elección de un potencial adecuado y un periodo de tiempo de aplicación de dicho potencial durante el tratamiento [45].

LA FAMILIA DEL GRAFENO

El grafeno es una estructura monoatómica formada por átomos de carbono cuya hibridación es sp^2 , es decir, que se disponen formando hexágonos, con lo cual los enlaces entre cada átomo de carbono son de 120° . De los cuatro electrones que hay en el átomo de carbono hibridado sp^2 , tres forman enlaces σ y el cuarto forma enlaces π y, además de ser compartido por toda la estructura, es responsable del transporte de electrones, teniendo su banda de energía muy lejos del nivel de Fermi [46]. Los electrones en el grafeno tienen un comportamiento parecido a las partículas cuánticas, puesto que muchos de estos no tienen inercia y tienen una velocidad cerca de la de la luz de $c < 10^6 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, es decir, son partículas que actúan como si no tuvieran masa y, por tanto, pueden moverse a mayor velocidad. Sin embargo, los electrones en el grafeno sí que tienen carga; de hecho, el transporte de electrones en este material se puede describir por la ecuación de Dirac [47], que es una función de onda que explica el comportamiento de los fermiones. El grafeno destaca principalmente por su particular estructura de bandas electrónicas, el famoso cono de Dirac, que hace que se comporte como semiconductor con un gap nulo y al mismo tiempo como un metal con densidad de estados nula en el nivel de Fermi. Los electrones pueden pasar de una banda a otra con facilidad [46] y, por tanto, la conductividad de estos es más alta que en otros materiales ($20 \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ S}^{-1}$) [48].

La familia del grafeno está constituida por diferentes modificaciones físicas o químicas del propio material [49]. Cuando el grafeno es puesto en tratamientos como el de la oxidación intensa o su reducción por métodos térmicos o químicos, se obtiene óxido de grafeno y el grafeno reducido respectivamente [50]. El óxido de grafeno consiste en una monocapa de átomos de carbono con grupos hidroxilo (-OH) y epóxido (-O) en su perímetro que le proporcionan una carga dependiente del pH. El grafeno reducido es el resultado del tratamiento a elevadas temperatura del óxido de grafeno y con agentes reductores como la hidracina [51]. La reducción del GO produce un restablecimiento de la conductividad eléctrica, aumenta su hidrofobicidad introduciendo defectos debido a la liberación de CO/CO_2 en su estructura cristalina [52].

Otras configuraciones más sofisticadas mediante enrollamientos de monocapas de grafeno son los nanotubos o CNT (de sus siglas en inglés *Carbon Nanotubes*). El diámetro de estos puede variar entre 1 y 2 nm en los SWNT (*Single-Walled Nanotubes*) y entre 10 y 100 nm en caso de los nanotubos de multicapa o MWNT (*Multi-Walled Nanotubes*) con una longitud que varía entre 50 nm y 1 cm [53].

LOS GRAFENOS EN LA INGENIERÍA TISULAR

Como se indicó en la introducción, el grafeno es un excelente material debido a sus óptimas propiedades de elasticidad, flexibilidad y mecánicas [54-56] para producir *scaffolds* sintéticos con alta probabilidad de éxito en ingeniería tisular. En este campo de investigación, los soportes necesitan simular la matriz extracelular (ECM) mediante una composición química y estructural adecuada [57, 58].



Los grafenos proporcionan la posibilidad de poder reforzar biomateriales que poseen muchas de las propiedades requeridas para ingeniería tisular pero que carecen de la resistencia mecánica y elasticidad adecuada. Además, la alta conductividad que posee el grafeno permite proporcionar tanto al soporte como al tejido estímulos eléctricos.

En la mayoría de los casos el grafeno no se ha utilizado como material puro, sino que se ha utilizado como refuerzo de otros biomateriales, confiriendo a la estructura heterogénea propiedades mecánicas, químicas y eléctricas que antes no poseía. Por ejemplo, la resistencia mecánica y elasticidad del alcohol polivinílico (PVA) [59] y del poli(metil metacrilato) (PMMA) [60] fue aumentada mediante refuerzo con óxido de grafeno.

La familia de los acrilatos y metacrilatos se ha utilizado en el sector biomédico en aplicaciones como cementos óseos, prótesis de córnea, lentes intraoculares, lentes de contacto e ingeniería tisular. En esta familia de biomateriales, en cada unidad estructural cuelga un grupo lateral éster (COO) que confiere a estos polímeros una configuración asimétrica y atáctica debido a que los grupos laterales se sitúan al azar. En consecuencia, los polímeros resultantes no pueden cristalizar, por lo que todos ellos son materiales amorfos.

La diferencia fundamental entre la familia de los acrilatos y metacrilatos estriba en el tipo de grupo funcional anclado al segundo carbono: si este es un hidrógeno, H, el proceso de polimerización dará lugar a la serie de acrilatos, mientras que si es un grupo metilo, CH_3 , se obtendrá la familia de los metacrilatos.

La estructura química del grupo funcional anclado al éster influye notablemente en las propiedades del polímero, en particular, en su carácter hidrófilo. Así, por ejemplo, si el grupo funcional anclado al segundo carbono es H y el grupo funcional anclado al éster es el grupo etilo, CH_2CH_3 , el polímero obtenido será de poli(acrilato de etilo) (PEA), un polímero hidrófobo. Por el contrario, si el grupo funcional anclado al segundo carbono es H y el grupo funcional anclado al éster es el grupo hidroxietilo, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, se obtendrá el poli(acrilato de hidroxietilo) (PHEA). Este último exhibe un carácter hidrófilo debido al grupo hidroxilo, OH, en la cadena lateral que interactúa con las moléculas de agua a través de puentes de hidrógeno.

Actualmente, existen tres estrategias principales para obtener materiales compuestos polímero/grafenos: mezcla en solución, la extrusión polímero-grafeno y la polimerización *in situ*. Mediante estas técnicas se han desarrollado híbridos con la familia de acrilatos y metacrilatos [61-64]. Cabe diferenciarlos del anclaje covalente por modificación química del óxido de grafeno, donde sobre óxido de grafeno se han anclado unidades monoméricas de acrilatos y/o metacrilatos [65-70].

Los polihidroxicanoatos o PHA son poliésteres lineales producidos en la naturaleza por la acción de las bacterias por fermentación del azúcar o lípidos. Estos plásticos son generalmente biodegradables y termoprocésables con puntos de fusión entre 40 y 180 °C. Más de 150 monómeros diferentes se pueden combinar para dar este tipo de materiales con propiedades extremadamente diferentes [71]. De este modo, se han sintetizado ya polihidroxicanoatos como el poli-3-hidroxi butirato (PHB), copolímeros de 3-hidroxi butirato y 3-hidroxi valerato (PHBV), poli-4-hidroxi butirato (P4HB), copolímeros de 3-hidroxi butirato y 3-hidroxi hexanoato (PHBHHx) y poli-3-hidroxi octanoato (PHO). De todos estos bioplásticos, los poli (3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato) (PHBV) son los que mayor potencial presentan para ingeniería tisular debido a sus propiedades mecánicas, su alta inmunotolerancia y su biodegradabilidad controlable mediante modificación superficial; además, son no tóxicos, biocompatibles con muchos tipos de células y se han desarrollado a nivel industrial [72-74]. Sin embargo, estos materiales presentan deficientes propiedades mecánicas que pueden ser mejoradas mediante el refuerzo con grafeno (PHBV) [75-77].

Otros materiales prometedores para ingeniería tisular son los biomateriales de origen marino, como el alginato y el quitosano [2]. Sus propiedades mecánicas necesarias para fabricar *scaffolds* con gran porosidad podrían ser mejoradas de la misma forma mediante la adición del grafeno y sus derivados. El alginato de sodio se puede considerar como un biomaterial biodegradable que se ha utilizado en diversos ámbitos, como en la liberación controlada de fármacos, en ingeniería de tejidos y en estudios biológicos. Su uso se ha extendido gracias a sus propiedades coloidales únicas, entre las que cabe destacar su función como espesante, estabilizante, formación de películas y producción de geles [78]. El alginato de sodio está compuesto de bloques iónicos de copolímeros de polisacáridos, que se pueden encontrar en las paredes celulares de las algas marrones. Estos bloques están compuestos de regiones sucesivas de monómeros de ácido β -D-manurónico (bloques M), regiones de ácido α -L-gulurónico (bloques G) y regiones de unidades M y G dispersas [79]. Las propiedades del alginato dependen del ratio de los bloques M/G y de la distribución de dichos bloques en las cadenas de las macromoléculas [80]. En presencia de cationes divalentes se pueden formar puentes iónicos entre las



cadenas formando así geles en medio acuoso y el entrecruzamiento ocurre gracias a los grupos carboxilos de los bloques G. Por lo tanto, los alginatos que son ricos en bloques G producen geles más rígidos [81]. Sin embargo, comparado con otros polímeros convencionales, el alginato de sodio en sí presenta varias desventajas, como son su fuerte carácter hidrófilo, sus propiedades mecánicas pobres y su baja estabilidad térmica, lo que restringe el uso de este biomaterial en ciertas aplicaciones [82]. A pesar de presentar estas desventajas, el alginato de sodio ha sido utilizado durante mucho tiempo para la generación de *scaffolds* porosos e hidrogeles en el campo de la ingeniería tisular y los biomateriales. Para solucionar estos problemas, se ha comprobado que el óxido de grafeno puede mejorar las propiedades mecánicas de estos hidrogeles, ya que el GO es un compuesto más estable que los polisacáridos convencionales y puede aportar estabilidad térmica y mejorar las propiedades mecánicas [83]. De este modo, por ejemplo, la adición de GO en tan solo un 6% ha conseguido aumentar la resistencia a la tracción y el módulo de Young de 71 MPa y 0,85GPa a 113 MPa y 4,18 GPa respectivamente [84], y se han desarrollado *scaffolds* porosos de alginato de sodio reforzados con un 5% de GO mediante el método de *freeze-drying* (liofilización en inglés) con gran potencial en ingeniería tisular [85].

Los puentes de hidrógeno que se forman en el nuevo compuesto son la principal razón de la mejora de las propiedades mecánicas de las fibras de alginato de sodio. Sin embargo, el entrecruzamiento entre las cadenas de alginato se produce habitualmente mediante la adición de cloruro cálcico que al hidrolizarse provoca la unión de dos cadenas de alginato con un átomo de calcio.

Otro de los materiales de origen marino prometedores en la ingeniería tisular es el quitosano, que presenta las óptimas propiedades de ser un polímero semisintético, no tóxico, biodegradable, biocompatible y antibacteriano [86]. Este biomaterial proviene de la quitina que deriva de los exoesqueletos de crustáceos y de algunas paredes celulares de hongos e insectos [87], lo cual hace que sea un biomaterial con un futuro prometedor debido a su abundancia como biopolímero natural. La fuente de quitina influye en el quitosano final, ya que afecta principalmente a la cristalinidad, la pureza y la disposición de las cadenas del polímero de quitosano [88].

Una característica importante del quitosano es la existencia de cuatro tipos diferentes de grupos funcionales: el grupo amino, el grupo acetamido, el hidroxilo primario y el hidroxilo secundario. Esta característica permite la modificación fácil del quitosano. El contenido en amino es el factor que contribuye a las diferencias de estructura y de las propiedades físico-químicas. La distribución de estos aminos es aleatoria, lo que permite una fácil generación de puentes de hidrógenos inter- e intramoleculares [89]. Sin embargo, a pesar de las excelentes propiedades del quitosano, también presenta una serie de inconvenientes, como baja resistencia mecánica, baja estabilidad hidrolítica y alto grado de hinchamiento [90]. Por estos motivos, se está estudiando qué ventajas podría aportar la generación de un biomaterial de quitosano reforzado con un componente altamente estable como los grafenos [91, 92]. Además, la adición de óxido de grafeno al quitosano aumentó la capacidad inhibidora de crecimiento de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, con lo que se amplían las posibilidades de uso antimicrobiano de este material [93]. En otro estudio de materiales compuestos de PVA/quitosano, el GO de nuevo en distintas concentraciones hizo que los diámetros de inhibición del antibiograma se incrementaran considerablemente con el aumento de la concentración [94].

Otros biomateriales biodegradables convencionales altamente utilizados en ingeniería tisular y el área biomédica en general, como la policaprolactona, el ácido poliláctico, el ácido poliglicólico y sus copolímeros, también están siendo combinados con grafenos para mejorar sus propiedades [95-98], aunque todavía queda mucho por investigar con estos materiales y poco hay publicado hasta ahora en la literatura.

La investigación de la toxicidad de la familia de nanomateriales de grafeno se encuentra todavía en su etapa de florecimiento y es difícil concluir los riesgos potenciales para la salud asociados a su uso, y si deben ser modificados químicamente en algunos casos para reducir el riesgo tóxico [99]. Del mismo modo, el proceso de biodegradación no está totalmente claro y queda mucho por estudiar, aunque ya se ha demostrado la degradación enzimática de diferentes tipos de dispersiones de óxido de grafeno con la enzima humana mieloperoxidasa [100], lo que hace este material muy prometedor para aplicaciones en ingeniería tisular.



BIBLIOGRAFÍA

- [1] C. Blitterwijk, *Tissue Engineering*, 2nd Edition, Academic Press, 2015.
- [2] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons, *Biomaterials Science, Third Edition, An Introduction to Materials in Medicine*, Academic Press, 2013.
- [3] M. Kalbacova, A. Broz, J. Kong, M. Kalbac, Graphene substrates promote adherence of human osteoblasts and mesenchymal stromal cells, *Carbon* **48** (2010) 4323-4329.
- [4] S. Shah, P. Yin, T. M. Uehara, Guiding Stem Cell Differentiation into Oligodendrocytes Using Graphene-Nanofiber HybridScaffolds, *Advanced materiales* **26** (2014) 3673-3680.
- [5] Y. Wan, X. Chen, G. Xiong, Synthesis and characterization of three-dimensional porous graphene oxide/sodium alginate scaffolds with enhanced mechanical properties, *Materials express* **4** (2014) 429-434.
- [6] R. Subbiah, P. Du, S. Y. Van, Fibronectin-tethered graphene oxide as an artificial matrix for osteogenesis, *Biomedical materials* **9** (2014) 065003.
- [7] X. Jing, H. Y. Mi, M. R. Salick, Electrospinning thermoplastic polyurethane/graphene oxide scaffolds for small diameter vascular graft applications, *Materials science & engineering C, Materials for biological applications* **49** (2015) 40-50.
- [8] N. Li, Q. Zhang, S. Gao, Three-dimensional graphene foam as a biocompatible and conductive scaffold for neural stem cells, *Scientific Reports* **3** (2013) 1604.
- [9] Z. M. Zhang, L. W. Wang, T. L. Zhai, X. C. Wang, Y. Dan, L.S. Turng, The surface grafting of graphene oxide with poly (ethylene glycol) as a reinforcement for poly(lactic acid) nanocompositescaffolds for potential tissue engineering applications, *Journal of the mechanical behaviour of biomedical materials* **53** (2016) 403-413.
- [10] D. Depan, J. S. Shah, R. D. K. Misra, Degradation mechanism and increased stability of chitosan-based hybrid scaffolds cross-linked with nanostructured carbon: Process-structure-functional property relationship, *Polymer degradation and Stability* **98** (2013) 2331-2339.
- [11] P. Hitscherich, A. Aphale, P. Patra, Biocompatibility of Pcl-graphene Electrospun Scaffolds with Mouse Embryonic Stem Cell-Derived Cardiomyocytes, *Tissue engineering part A* **20** (2014) S85-S85.
- [12] S., M. Dinescu, A. M. Pandele, In vitro cytocompatibility evaluation of chitosan/graphene oxide 3D scaffold composites designed for bone tissue engineering, *Bio-medical materials and engineering* **24** (2014) 2249-2256.
- [13] M. Fiorillo, A. F. Verre, M. Lliut, M. Peiris-Pag , B. Ozsvari, R. Gandara, A. R. Cappello, F. Sotgi, A. Vijayaraghavan, M. P. Lisanti, Graphene oxide selectively targets cancer stem cells, across multiple tumor types: Implications for non-toxic cancer treatment, via differentiation-based nano-therapy, *Oncotarget* **28** (2015) 3553-62.
- [14] J. H. Warner, F. Schaffel, M. Rummeli, A. Bachmatiuk, *Graphene: Fundamentals and emergent applications*, Elsevier, 2013.
- [15] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva, A. A. Firsov, *Science* **306** (2004) 666-669.
- [16] K. S. Novoselov, D. Jiang, F. Schedin, T. J. Booth, V. V. Khotkevich, S. V. Morozov, A. K. Geim, *Proc Natl Acad Sci*, **102** (2005) 10451-10453.
- [17] L. M. Viculis, J. J. Mack, R. B. Kaner, A chemical route to carbon nanoscrolls, *Science* **299** (2003) 1361.
- [18] L. G. De Arco et. al., Continuous, Highly Flexible, and Transparent Graphene Films by Chemical Vapor Deposition for Organic Photovoltaics, *ACS Nano* **4** (2010) 2865-2873.
- [19] X. Fan, W. Peng, Y. Li, X. Li, S. Wang, G. Zhang, F. Zhang, Deoxygenation of exfoliated graphite oxide under alkaline conditions: A green route to graphene preparation, *Adv. Mater* **20** (2008) 4490-4493.
- [20] S. Stankovich, D. A. Dikin, R. D. Piner, K. A. Kohlhaas, A. Kleinhammes, Y. Jia, Y. Wu, S. T. Nguyen, R. S. Ruoff, Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide, *Carbon* **45** (2007) 1558-1565.
- [21] J. L. Zhang, H. J. Yang, G. X. Shen, P. Cheng, J. Y. Zhang, S. W. Guo, Reduction of graphene oxide via L-ascorbic acid, *Chem. Commun* **46** (2010) 1112-1114.
- [22] Z. Wang, X. Zhou, J. Zhang, F. Boey, H. Zhang, Direct electrochemical reduction of single-layer graphene oxide and subsequent functionalization with glucose oxidase, *J. Phys. Chem. C*, **113** (2009) 14071-14075.
- [23] M. Zhou, Y. Wang, Y. Zhai, J. Zhai, W. Ren, F. Wang, S. Dong, Controlled synthesis of large-area and patterned electrochemically reduced graphene oxide films, *Chem. Eur. J* **15** (2009) 6116-6120.



- [24] M. J. Mcallister; J. Li, H. D. Adamson, C. H. Schnlepp, A. A. Abdalam, J. Liu, M. Hrrera-Alonso, D. L. Milius, R. Car, R. K. Prud'gomme, I. A. Aksay, Single sheet functionalized graphene by oxidation and thermal expansion of graphite, *Chem. Mater* **19** (2007) 4396-4404.
- [25] G. Sangiliyandi et al., Microbial reduction of graphene oxide by *Escherichia coli*: A green chemistry approach, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **102** (2013) 772-777.
- [26] O. Akhavan, E. Ghaderi, *Escherichia coli* bacteria reduce graphene oxide to bactericidal graphene in a self-limiting manner, *Carbon* **50** (2012) 1853-1860.
- [27] E. C Salas, Z. Sun, A. Luttge, J. M. Tour, Reduction of graphene oxide via bacterial respiration, *ACS Nano* **4** (2010) 4852-4856.
- [28] G. Wang, F. Qian, C. W. Saltikov, Y. Jiao, Y. Li, Microbial reduction of graphene oxide by *Shewanella*, *Nano Research* **4** (2011) 563-570.
- [29] C. R. Myers, K. H. Neelson, Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor, *Science* **240** (1988) 1319-1321.
- [30] J. K. Fredrickson, M. F. Romine, A. S. Beliaev, J. M. Auchtung, M. E. Driscoll, T. S. Gardner, K. H. Neelson, A. L. Osterman, G. Pinchuk, J. L. Reed, D. A. Rodionov, J. L. M. Rodrigues, D. A. Saffarini, M. H. Serres, A. M. Spormann, I. B. Zhulin, J. M. Tiedje, Towards environmental systems biology of *Shewanella*, *Nat. Rev. Microb* **6** (2008) 592-603.
- [31] Y. Tanizawa, Y. Okamoto, K. Tsuzuki, Y. Nagao, N. Yoshida, R. Tero, S. Iwasa, A. Hiraishi, Y. Suda, H. Takikawa, R. Numano, H. Okada, R. Ishikawa, A. Sandhu, Microorganism mediated synthesis of reduced graphene oxide films, *J. Phys. Conf. Ser* **352** (2012), 012011.
- [32] Y. Wang, Z. Shi, J. Yin, Facile synthesis of soluble graphene via a green reduction of graphene oxide in tea solution and its biocomposites, *ACS Appl Mater Interfaces* **3** (2011) 1127-33.
- [33] W. S. Hummers Jr, R. E. Offeman, Preparation of Graphitic Oxide, *J. Am. Chem. Soc.* **80** (1958) 1339.
- [34] N. I. Kovtyukhova, P. J. Ollivier, B. R. Martin, T. E. Mallouk, Layer-by-Layer Assembly of Ultrathin Composite Films from Micron-Sized Graphite Oxide Sheets and Polycations, *Chem. Mater.* **11** (1999) 771-778.
- [35] J. Gao, F. Liu, Y. Liu, N. Ma, Z. Wang, X. Zhang, Environment-Friendly Method To Produce Graphene That Employs Vitamin C and Amino Acid, *Chem. Mater.* **22** (2010) 2213-2218.
- [36] M. J. Fernández-Merino, L. Guardia, J. I. Paredes, S. Villar-Rodil, P. Solís-Fernández, A. Martínez-Alonso, J. Tascón, M. D., Vitamin C Is an Ideal Substitute for Hydrazine in the Reduction of Graphene Oxide Suspensions, *J. Phys. Chem. C* **114** (2010) 6426-6432.
- [37] J. Liu, S. Fu, B. Yuan, Y. Li, Z. Deng, *J. Am. Chem. Soc.* **132** (2010) 7279-7281.
- [38] K. R. Paton, E. Varrla, C. Backes, R. J. Smith, U. Khan, A. O'Neill, J. N. Coleman, Scalable production of large quantities of defect-free few-layer graphene by shear exfoliation in liquids, *Nature Materials* **13** (2014) 624-630.
- [39] C. T. J. Low, F. C. Walsh, M. H. Chakrabarti, M. Hashim, M. Hussain, Electrochemical approaches to the production of graphene flakes and their potential applications, *Carbon* **54** (2013) 1-21.
- [40] G. Wang, B. Wang, J. Park, Y. Wang, B. Sun, J. Yao, Highly efficient and large-scale synthesis of graphene by electrolytic exfoliation, *Carbon* **47** (2009) 3242-3246.
- [41] M. Alanyaliog et al., The synthesis of graphene sheets with controlled thickness and order using surfactant-assisted electrochemical processes, *Carbon* **50** (2012) 142-152.
- [42] J. I. Paredes, S. Villar-Rodil, M. J. Fernandez-Merino, L. Guardia, A. Martínez-Alonso, J. M. D Tascon, Environmentally friendly approaches toward the mass production of processable graphene from graphite oxide, *J Mater Chem* **21** (2011) 298-306.
- [43] Y. Shao, J. Wang, M. Engelhard, C. Wang, Y. Lin, Facile and controllable electrochemical reduction of graphene oxide and its applications, *J Mater Chem* **20** (2010) 743-748.
- [44] J. Wang, K. K. Manga, Q. Bao, K. P. Loh, High-yield synthesis of few-layer graphene flakes through electrochemical expansion of graphite in propylene carbonate electrolyte, *J Am Chem Soc* **133** (2011) 8888-8891.
- [45] G. M. Morales, P. Schifani, G. Ellis, C. Ballesteros, M. Gerardo, C. Barbero, High-quality few layer graphene produced by electrochemical intercalation and microwave-assisted expansion of graphite, *Carbon* **49** (2011) 2809-2816.
- [46] F. Mark, O. Goerbig, L. Notes, Introduction to the Physical Properties of Graphene, *Carbon* **472** (2008) 8539-8539.
- [47] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, M. I. Katsnelson, I. V. Grigorieva, S. V. Dubonos and A. A. Firsov, Two-dimensional gas of massless Dirac fermions in graphene, *Nature* **438** (2005) 197-200.



- [48] J. Lee, L. Tao, Y. Hao, R. S. Ruoff, D. Akinwande, Embedded-gate graphene transistors for high-mobility detachable flexible nanoelectronics, *Appl Phys Lett* **100** (2012) 152104-7.
- [49] V. C. Sanchez, A. Jachak, R. H. Hurt, A. B. Kane, Biological Interactions of Graphene-Family Nanomaterials: an Interdisciplinary review, *Chem. Res. Toxicol.* **25** (2012) 15-34.
- [50] M. Pumera, Graphene-based nanomaterials for energy storage, *Energy & Environmental Science* **4** (2011) 668.
- [51] S. Park, J. An, I. Jung, R. D. Piner, S. J. An, X. Li, A. Velamakanni, R. S. Ruoff, Colloidal suspensions of highly reduced graphene oxide in a wide variety of organic solvents, *Nano Lett* **9** (2009) 1593-1597.
- [52] A. Bagri, C. Mattevi, M. Acik, Y. J. Chabal, M. Chhowalla, V. B. Shenoy, Structural evolution during the reduction of chemically derived graphene oxide, *Nat Chem* **2** (2010) 581-587.
- [53] S. H. Ku, M. Lee, C. B. Park, Carbon-Based Nanomaterials for Tissue Engineering, *Advanced Healthcare Materials* **2** (2013) 244-260.
- [54] I. W. Frank, D. M. Tanenbaum, A. M. van der Zande, PL McEuen, Mechanical properties of suspended graphene sheets, *The Journal of Vacuum Science and Technology B* **25** (2007) 2558-2561.
- [55] C. Lee, X. Wei, J. W. Kysar, J. Hone, Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene, *Science* **321** (2008) 385-388.
- [56] A. J. Keung, K. E. Healy, S. Kumar, D. V. Schaffer, Biophysics and dynamics of natural and engineered stem cell microenvironments, *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* **2** (2010) 49-64.
- [57] H. Shin, S. Jo, A. G. Mikos, Biomimetic materials for tissue engineering, *Biomaterials* **24** (2003) 4353.
- [58] Y. Lin, S. Taylor, H. P. Li, K. A. S. Fernando, L. W. Qu, W. Wang, L. R. Gu, B. Zhou, Y. P. Sun, Advances toward bioapplications of carbon nanotubes, *J. Mater. Chem.* **14** (2004) 527.
- [59] L. Zhang, Z. Wang, C. Xu, Y. Li, J. Gao, W. Wang, Y. Liu, High strength graphene oxide/polyvinyl alcohol composite hydrogels, *J Mater Chem.* **21** (2011) 10399-10406.
- [60] T. Ramanathan, A. A. Abdala, S. Stankovich, D. A. Dikin, M. Herrera-Alonso, R. D. Piner, D. H. Adamson, H. C. Schniepp, X. Chen, R. S. Ruoff, S. T. Nguyen, I. A. Aksay, R. K. Prud'Homme, L. C. Brinson, Functionalized graphene sheets for polymer nanocomposites, *Nat Nanotechnol* **3** (2008) 327-331.
- [61] J. R. Potts, H. L. Leeb, T. M. Alamc, J. Ana, M. D. Stollera, R. D. Pinera, R. S. Ruoff, Thermomechanical properties of chemically modified graphene/poly(methyl methacrylate) composites made by in situ polymerization, *Carbon* **49** (2011) 2615-2623.
- [62] G. Vleminckx, S. Bose, J. Leys, J. Vermant, M. Wübbenhorst, M. A. Abdala, C. Macosko and P. Moldenaers, Effect of Thermally Reduced Graphene Sheets on the Phase Behavior, Morphology, and Electrical Conductivity in Poly[(-methyl styrene)-co-(acrylonitrile)/poly(methyl-methacrylate) Blends, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **3** (2011) 3172-3180.
- [63] K. W. Putz, O. C. Compton, M. J. Palmeri, S. T. Nguyen, L. C. Brinson, High-Nanofiller-Content Graphene Oxide-Polymer Nanocomposites via Vacuum-Assisted Self-Assembly, *Adv. Funct. Mater.* **20** (2010) 3322-3329.
- [64] H. P. Viet, T. D. Thanh, H. H. Seung, J. K. Eui, S. Ch. Jin, Highly Conductive Poly(methyl methacrylate) (PMMA)-Reduced Graphene Oxide Composite Prepared by Self-Assembly of PMMA Latex and Graphene Oxide through Electrostatic Interaction, *Appl. Mater. Interfaces* **4** (2012) 2630-2636.
- [65] L. Zhazhan, Z. Shaojia, L. Yongjun, L. Yongsheng, S. Ping, H. Zhong, H. Xiaoyu, Preparation of graphene/poly(2-hydroxyethyl acrylate) nanohybrid materials via an ambient temperature "grafting-from" strategy, *Polym. Chem.* **6** (2015) 311.
- [66] O. Baoli, Z. Zhihua, L. Qingquan, L. Bo, Y. Shoujun, O. Yangjian, Z. Xin, L. Duxin, Covalent functionalization of graphene with poly(methyl methacrylate) by atom transfer radical polymerization at room temperature, *Polym. Chem.* **3** (2012) 2768.
- [67] G. Gonçalves, P. A. A. P. Marques, A. Barros-Timmons, I. Bdkin, M. K. Singh, N. Emamic and J. Grácio, Graphene oxide modified with PMMA via ATRP as a reinforcement filler, *J. Mater. Chem.* **20** (2010) 9927-9934.
- [68] Yan D., Yongjun L., Jing D., Meidong L., Xiaoyu H., Functionalization of graphene oxide towards thermo-sensitive nanocomposites via moderate in situ SET-LRP, *Journal of Polymer Science part A: polymer chemistry* **49** (2011) 4747-4755.
- [69] S. H. Lee, D. R. Dreyer, J. An, A. Velamakanni, R. D. Piner, S. Park, Y. Zhu, S. O. Kim, C. W. Bielawski and R. S. Ruoff, Polymer Brushes via Controlled, Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP) from Graphene Oxide, *Macromol. Rapid Commun.* **31** (2010) 281-288.



- [70] Y. Yongfang, W. Jie, Z. Jian, L. Jinchuan, Y. Xinglin, Z. Hanying, Exfoliated Graphite Oxide Decorated by PDMAEMA Chains and Polymer Particles, *Langmuir* **25** (2009), 11808-11814.
- [71] Y. Doi, A. Steinbuchel, *Biopolymers, Volume 3b, Polyesters II - Properties and Chemical Synthesis*, Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2002.
- [72] C. Guo-Qiang, W. Qiong, The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials, *Biomaterials* **26** (2005) 6565-6578.
- [73] W. Lingyun, D. Jiqing, C. Derong, W. Yingjun, Recent Advances and the Application of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) as Tissue Engineering Materials, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry* **50** (2013) 885-893.
- [74] H. M. Chang, et al., Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)-based scaffolds for tissue engineering, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **47** (2014) 533-539.
- [75] J. Ambrosio-Martin, G. Gorrasi, A. Lopez-Rubio, M. J. Fabra, L. C. Mas, M. A. Lopez-Manchado, J. M. Lagaron, On the use of ball milling to develop PHBV-graphene nanocomposites (I)-Morphology, thermal properties, and thermal stability, *Journal of Applied Polymer Science* **132** (2015), DOI: 10.1002/app.42101.
- [76] B. J. Wang, Y. J. Zhang, Y. J. Zhang, Q. T. Gou, Z. B. Wang, P. Chen, Q. Gu, Crystallization behavior, thermal and mechanical properties of PHBV/graphene nanosheet composites, *Chinese Journal of Polymer Science* **31** (2013) 670-678.
- [77] H. Y. Yu, J. M. Yao, Z. Y. Qin, L. Liu, X. G. Yang, Comparison of Covalent and Noncovalent Interactions of Carbon Nanotubes on the Crystallization Behavior and Thermal Properties of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), *Journal of Applied Polymer Science* **130** (2013) 4299-4307.
- [78] A. D. Augst, H. J. Kong, D. J. Mooney, Alginate hydrogels as biomaterials, *Macromolecular Bioscience* **6** (2006) 623-633.
- [79] P. B. Malafaya, G. A. Silva, R. L. Reis, Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **59** (2007) 207-233.
- [80] M. Rinaudo, Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials, *Polym. Int.* **57** (2008) 397-430.
- [81] K. I. Drage, T. G. Skjåk-Bræk, O. Smidsrød, Alginate based new materials, *Int. J. Biol. Macromol.* **21** (1997) 47-55.
- [82] M. Alboofetileh, M. Rezaei, H. Hosseini, M. Abdollahi, Effect of montmorillonite clay and biopolymer concentration on the physical and mechanical properties of alginate nanocomposite films, *Journal of Food Engineering* **117** (2013) 26-33.
- [83] L. Nie, C. Liu, J. Wang, Y. Shuai, X. Cui, L. Liu, Effects of surface functionalized graphene oxide on the behavior of sodium alginate, *Carbohydr. Polym.* **117** (2015) 616-623.
- [84] M. Ionita, M. A. Pandele, H. Iovu, Sodium alginate/graphene oxide composite films with enhanced thermal and mechanical properties, *Carbohydr. Polym.* **94** (2013) 339-344.
- [85] Y. Wan, X. Chen, G. Xiong, R. Guo, H. Luo, Synthesis and characterization of three-dimensional porous graphene oxide/sodium alginate scaffolds with enhanced mechanical properties, *Mater. Express* **4** (2014) 429-434.
- [86] Y. B. Wu, S. H. Yu, F. L. Mi, Preparation and Characterization On Mechanical and Antibacterial Properties of Chitosan/Cellulose Blends, *Carbohydr. Polym.* **57** (2004) 435-440.
- [87] M. G. Peter, *Biopolymers for Medical and Pharmaceutical Applications*; Steinbuchel, A., Marchessault, R.H., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2005; pp. 419-512.
- [88] M. Rinaudo, Chitin and chitosan: Properties and applications, *Prog. Polym. Sci.* **31** (2006) 603-632.
- [89] J. Zhang, W. Xia, P. Liu, Q. Cheng, T. Tahiri, W. Gu, B. Li, Chitosan modification and pharmaceutical/biomedical applications, *Mar. Drugs* **8** (2010) 1962-1987.
- [90] M. Zhang, X. H. Li, Y. D. Gong, Properties and Biocompatibility of Chitosan Films Modified by Blending with PEG, *Biomaterials* **23** (2002) 2641-2648.
- [91] D. Han, L. Yan, W. Chen, W. Li, Preparation of chitosan/graphene oxide composite film with enhanced mechanical strength in the wet state, *Carbohydr. Polym.* **83** (2011) 653-658.
- [92] X. Wang, H. Bai, Z. Yao, A. Liu, G. Shi, Electrically conductive and mechanically strong biomimetic chitosan/reduced graphene oxide composite films, *J. Mater. Chem.* **20** (2010) 9032-9036.
- [93] H. N. Lim, N. M. Huang, C. H. Loo, Facile preparation of graphene-based chitosan films: Enhanced thermal, mechanical and antibacterial properties, *J. Non-Cryst. Solids* **358** (2012) 525-530.



- [94] Y. Liu, M. Park, H. K. Shin, B. Pant, J. Choi, Y. W. Park, J. Y. Lee, S. J. Park, H. Y. Kim, Facile preparation and characterization of poly(vinyl alcohol)/chitosan/graphene oxide biocomposite nanofibers, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **20** (2014) 4415-4420.
- [95] B. Holmes, X. Q. Fang, A. Zarate, M. Keidar, L. G. Zhang, Enhanced human bone marrow mesenchymal stem cell chondrogenic differentiation in electrospun constructs with carbon nanomaterials, *Carbon* **97** (2016) 1-13.
- [96] A. Nieto, R. Dua, C. Zhang, B. Boesl, S. Ramaswamy, A. Agarwal, Three Dimensional Graphene Foam/Polymer Hybrid as a High Strength Biocompatible Scaffold, *Advanced Funtional Materials* **25** (2015) 3916-3924.
- [97] W. L. Shao, J. X. He, F. Sang, Q. Wang, L. Chen, S. Z. Cui, B. Ding, Enhanced bone formation in electrospun poly(L-lactic-co-glycolic acid)-tussah silk fibroin ultrafine nanofiber scaffolds incorporated with graphene oxide, *Materials Science&Engineering C-Materials for Biological Applications* **62** (2016) 823-834.
- [98] G. Lalwani, A. Gopalan, M. D'Agati, J. S. Sankaran, S. Judex, Y. X. Qin, B. Sitharaman, Porous three-dimensional carbon nanotube scaffolds for tissue engineering, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **10** (2015) 3212-3225.
- [99] S. Syama, P. V. Mohanan, Safety and biocompatibility of graphene: A new generation nanomaterial for biomedical application, *International Journal of Biological Macromolecules* **86** (2016) 546-555.
- [100] R. Kurapati, J. Russier, M. A. Squillaci, E. Treossi, C. Ménard-Moyon, A. E. Del Rio-Castillo, E. Vázquez, P. Samorì, V. Palermo, A. Bianco, Dispersibility-Dependent Biodegradation of Graphene Oxide by Myeloperoxidase, *Small* **32** (2015) 3985-3994.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado con la ayuda del proyecto interno de la Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir PRUCV2015/640-CO2-01, el proyecto del Ministerio de Economía y Competitividad MAT2015-69315-C3-1-R otorgado a la Universitat Politècnica de València y la beca de colaboración del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte concedida al Departamento de Ciencias Aplicadas y Tecnológicas de la UCV para el curso 2015-2016.



