



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

III. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2019ko maiatzaren 27, 28 eta 29
Baiona, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

INGENIARITZA ETA ARKITEKTURA

**Elektrospinning bidezko PCL
nanozuntzen lorpena larruazal-
birsorkuntzarako**

*Claudia Goenaga, Naiara Rodriguez-
Florez, Alaitz Zabala, Estela Lapeira
eta Lorea Buruaga*

26-33 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iii.03.03>



Elektrospinning bidezko PCL nanozuntzen Iorpena larruazal-birsorkuntzarako

Goenaga, Claudia; Rodriguez-Florez, Naiara; Zabala, Alaitz; Lapeira, Estela eta Buruaga, Lorea
Mekanika eta ekoizpen industrialeko departamentua, Mondragon Goi Eskola Politeknikoa

claudia.goenaga@alumni.mondragon.edu

Laburpena

Larruazal-ultzerak osasun publikoarentzat mehatxu larriak dira, eta zaurien orbaintzea prozesu naturala bada ere, zauri-jantzi egoki batek prozesuan lagundu dezake. Lan honetan, elektrospinning teknika bitartez, polikaprolaktonazko (PCL) zauri-jantziak diseinatu dira, zeinei plaketan aberatsa den plasma (PRP) estaldura gehitu zaie. PCL biobateragarria eta biodegradagarria den polimero sintetikoa da. PRPak aldiz, lesioa sendatzeko oso garrantzitsuak diren hazkunde-faktoreak eskaintzen dizkio zauri-jantziari. PRParen adizio eraginkorra ahalbidetzeko, PCLezko zuntz-sareen funtzionalizazioa burutu da hau kontzentrazio desberdineko disoluzio alkalinoetan murgilduz. Horrela, kaltetutako azalgeruzen birsortzea eragingo duen zauri-jantzia garatu da.

Hitz gakoak: elektrospinning, PCL, PRP, nanozuntzak eta zauri-jantzia

Abstract

Skin ulcers are a serious threat to public health system, and, although wound healing is a natural process, a proper dressing can improve the healing process. In this work, platelet rich plasma (PRP) coated polycaprolactone (PCL) wound dressings have been designed by means of electrospinning. PCL is a biocompatible and biodegradable synthetic polymer. PRP, in turn, offers growth factors to the dressing, which are significant in the healing. To enable an effective addition of PRP, functionalization of PCL fibre meshes has been carried out by immersing them in alkaline dissolution of different concentrations. In this way, a novel wound dressing that aids in the regeneration of damaged skin layers has been developed.

Keywords: electrospinning, PCL, PRP, nanofibers and wound dressing

1. Sarrera

Azalaren edo mukosen haustura eragiten duen eta substantzien galera sorrarazten duen traumatismo batek sortutako lesioa da ultzera. Horrela, ordura arte esterila zen barne zauriaren eta kanpokoaren arteko komunikazioa gertatzen da. Gaixo kopuru handia dela eta, larruazal-ultzerak osasun publikoarentzat eta ekonomiarako mehatxu larriak dira, zeinak adina edo sexua edozein izanik ager daitezkeen. Tamaina, sakonera eta hedaduraren arabera izango da tratamendua, eta kaltetutako azalaren osotasunak efektu psikologiko, sozial eta ekonomiko garrantzitsuak eragin ditzake.

Zaurien orbaintzea prozesu biologiko espezifikoa da, ehunen hazkuntza eta birsorkuntza fenomenoekin lotuta dagoena. Hala ere, ultzerek orbaintze-prozesuaren aurrean oso jarrera eskasa aurkezten dute. Zauri-jantzi egoki batek prozesua hobetu dezake, zauriaren ingurunean beharrezkoak diren baldintzak sorraraziz. Baldintza horien artean aipagarrienak zauritik gehiegizko exudatuak xurgatzea, zauria trakzio mekanikoetatik eta bakterioen infiltrazioetatik babestea, gas eta fluido ezberdinen trukea ahalbidetzea, trauma sorrarazi gabe kentzea posible izatea, ez-toxikotasuna eta ez-alergenotasuna eskaintzea eta hemostasia propietate azkarra izanik (Lionelli eta Lawrence, 2003). Halaber, zauri-jantziak orbaintzeari mesedea egiten dio eta zauriaren itxura hobetu egiten du, baita mina murriztu ere, gaixoaren ongizatea areagotuz eta zauriaren gunearen erabilera hobetuz.

Zauri-jantziak garatzeko egon daitezkeen metodo guztien artean, azkenengo mendean elektrospinning teknikak interes handia sortu du. Polimero naturalen edo sintetikoaren soluzio polimeroetatik abiatuz eta indar elektrikoak erabiliz, nanometrotatik hainbat mikrometro-tako diametro-dun zuntzak lortzea helburu duen teknologia da elektrospinning-a (Sánchez et al., 2013). Teknika honen bitartez lorturiko zauri-jantziek dituzten propietateen artean, zauria sendatzeko beharrezkoa den ingurunea sortzeko dituzten gaitasunak azpimarratu daitezke. Gaitasun hauen artean daude, esate baterako, bolumenarekiko duen azalera handia, porositate aldagarria, tamaina eta itxura askotan doitzeko malgutasuna eta zuntzen konposizioa kontrolatzeko aukera (Tong et al., 2012).

Larruazal-birsorkuntzan nanozuntzak substratu fisiko bezala jokatu du erlazio zelularrean, ugaltzean eta desberdintzapenean. Zelulentzat ingurune egoki bat eskaintzeko asmoz, nanozuntzak biobateragarriak eta biodegradagarriak izan behar dira, eta espezifikazioen arabera egon behar dira diseinatuak (Park et al., 2007). Azkenengo hamarkadan, elektrospinning teknika medio erabili diren materialen artean hurrengoak erabili dira: azido poli(laktiko-ko-glikoliko)a (PLGA) bihotz-ehuna eraikitzeko (Zong et al., 2005); azido poli(l-laktiko)a (PLLA) hezur birsorkuntzarako (Shim et al., 2010); eta polikaprolaktona (PCL) nerbioen konponketarako (Jha et al., 2011), tendoi birsorkuntzarako (Bosworth et al., 2008) eta azaleko ehun ingeniartzarako (Chen et al., 2011).

PCLa, jatorri fosila duen eta Ameriketako Estatu Batuetako *Food and Drug Administration* (FDA) eta Europako CE-k balioztatutako (Augustine et al., 2015) biomateriala izanik, aplikazio ezberdin askotan da erabilgarria. Giza gorputzaren aurrean aurkeztu duen bioaktibitatea, propietate mekanikoak eta prozesagarritasun termoplastikoak, zauri-jantzien garapenerako hautagai egokian bihurtzen dute biopolimero sintetiko hau.

Lortutako zauri-jantziak zauria sendatzeko beharrezkoa den ingurune hezea sortzeko gai badira ere, zaurien sendaketa-prozesua bizkortzeko agente terapeutikoen tratamenduen estaldura erabili ohi da; honek sendaketa-prozesuabizkortzen duela ikusi baita. Hori dela eta, lan honetan agente terapeutiko bezala plaketan aberatsa den plasma (PRP) erabiltzea erabaki da. PRPak hazkunde-faktore maila altua dauka, zeinak plaketetatik jariatzen diren. Gainera, zelulen atxikipenaren parte hartzen duten proteinatan aberatsa da. Honek migrazio zelularerako eta ehunen ugaltzerako beharrezkoa den egitura sortzea ahalbidetzen dio. PRPak hazkuntza-faktoreei zuzendutako zelulei eragiteaz gain, zelulen matrize extrazelularrean (ECM) ere eragiten du, ehunen konponketa eta/edo birsorkuntza modu globalean estimulatzeko (Rodríguez-Flores et al., 2011).

Aitzinamendu honetan aukera ikusi da elektrospinning bitartez ultzeren sendaketa ahalbidetu edo erraztuko duten elementuak sortzeko, eta PRP-estaldura izango duten PCLezko zauri-jantzietan egin da apustua. PRP-a lortzeko eta zuntzetan estaldura osatzeko Osakidetzako Transfusio eta Giza-Ehunen Euskal Zentroarekin (TGEEZ) kolaboratu da.

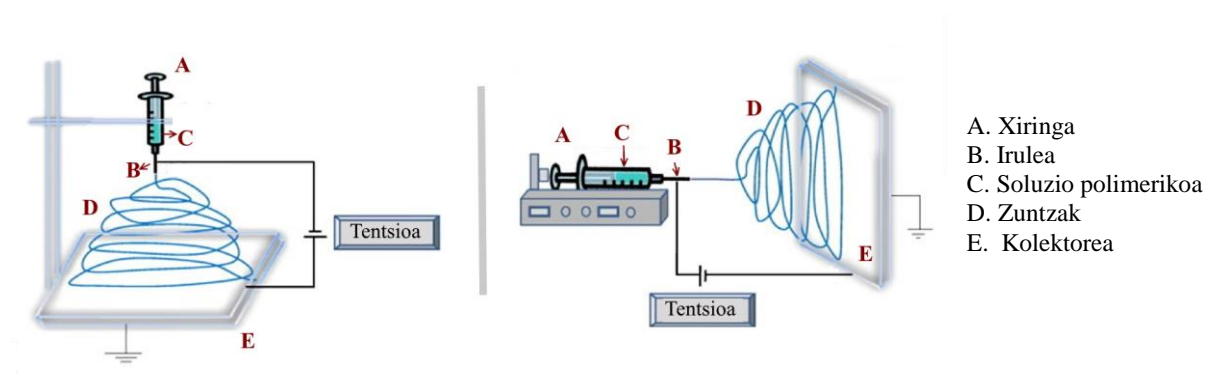
2. Helburuak

Proiektu honen helburu nagusia erabateko berriztapena, kaltetutako azal-geruzen birsorkuntza barne, eskaintzen duen polikaprolaktonazko (PCL) nanozuntzen-sareen sorkuntza da. Horretarako elektrospinning teknikaren analisia, PCL nanozuntz-sareen eraketa egonkorra eta hauen tratamendua gauzatu dira, nanozuntzetan PRP-estalduraren gehiketa burutu ahal izateko.

3. PCL nanozuntzen lorpena eta optimizazioa

Elektrospinning ekipoak hiru atal nagusi ditu; irulea, tentsio altuko elikadura-iturria eta kolektorea (ikus 1. irudia). Tentsio altuko elikadura-iturriaren bidez, xiringan aurkitzen den eta iruletik ateratzen den soluzio polimerikoari polaritate bateko karga ezartzen zaio. Balio kritiko bat gainditzean, likidoaren aldarapen indar elektrikoak gainazal-tentsio indarra gainditzen du eta soluzio polimerikoaren isuria orratzaren aurrean kokatutako eta kontrako polaritatea duen kolektore batengana da erakarria (Univerza eta Mariboru, 2013). Zuntz lehorrak metatzen dira kolektorean, disolbatzailearen lurrunketa kolektorearengana bidaian zehar gertatzen baita.

1. irudia. Elektrosinning muntaketa bertikala (ezker) eta horizontala (eskuin) (Zhu eta Chen, 2013)



Elektrosinning teknikan soluzioari, prozesuari edo/eta inguruneari dagozkion parametroak har daitezke kontuan (ikus 1. taula). Parametro hauen manipulazio egokiaren arabera, morfologia eta diametro ezberdineko nanozuntzak edota tantak lor daitezke. Lan honetan, helburua tantarik gabeko zuntzak lortzea litzateke.

1. taula. Elektrosinning teknikaren parametroak

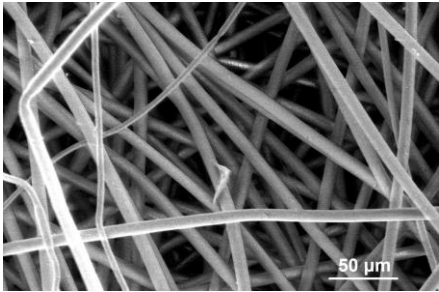

Parametroa	Aldagaiak	Ezaugarriak	
Soluzioaren parametroak	Soluzioaren kontzentrazioa	↑	Zaildu egiten du soluzioaren bidaia kapilarretik
		↓	Polimero zuntzak kolektoreara iritsi baino lehen tantetan banatzen dira
	Biskositatea	↑	Zurrustaren sorpena zailtzen du
		↓	Ez dago jarraipena zuntzen sorkuntzan; tantak edo tantadun zuntzen eraketa
	Soluzioaren eroankortasuna	↑	Kargak garraiatzeko ahalmen handia. Eroankortasuna areagotzean, zuntzaren diametroa txikiagotzen da
		↓	Zurrustaren elongazioa ez da nahikoa tanta gabeko zuntzak eratzeko
	Gainazal-tentsioa	↑	Prozesuaren inhibizioa zurrusten ezegonkortasunak eta tanten sorketa direla eta
		↓	Tanta gabeko zuntzak
Prozesuaren parametroak	Potenzial-diferentzia	↑	Disolbatzailearen lurrunketa azkarra eta diametroen murrizketa
		↓	Bultzada txikia kolektorearenganako bidaian. Ez dira zuntzik osatuko
	Emaria	↑	Zuntzen diametroa handitu egiten da. Tantadun zuntzen sorkuntza
		↓	Disolbatzaileak lurruntzeko denbora nahikoa izango du
	Irulea eta kolektorearen arteko distantzia	↑	Bere pisua dela eta, apurtu daitezke. Soluzioaren luzapen handiagoa, diametro txikiagoko zuntzen bilketa
		↓	Disolbatzailearen lurrunketa ez da osorik ematen, zuntz hezeen jasoketa
Inguruneko parametroak	Tenperatura	↑	Zuntzen diametroa txikitu egiten da, lurrunketa-tasa handituz
	Hezetasuna	↑	Lortutako zuntzetan diametroen areagotzea eta poroen sorkuntza posiblea

Aipagarria da soluzioaren kontzentrazioa zuntzen lorpenean lehen abiapuntua dela. Izan ere, badago kontzentrazio kritiko bat non hortik behera ez den zuntzik lortzen, eta bai aldiz, gorako balioetan. Kontzentrazio kritiko horretan polimero kateen arteko interakzio fisikoak zuntzak txertotik kolektorenganako bidean pasatzen duen elongazioa jasateko eta tantetan ez hausteko nahiko sendoak direla kontsideratzen da. PCL zuntzen lorpenerako kloroformoan % 12 pisu portzentaia erabili da. Kloroformoaren erabilera segurua kontsideratzen da, disolbatzailea osorik lurruntzen denez kolektorearenganako bidean, ez baita honen arrastorik gelditzen bukaerako produktuan. Hortaz,

zelulekin interakzioa mantenduko duen material bakarra PCLa izango da, zeina, esan bezala, biobateragarria den.

Lehen pausua, parametroak konbinatuz tantarik gabeko nanozuntzak sortzea izan da. Lortutako zuntz-sarea homogenea, leuna eta elastikoa izan da, zeinak ez dituen ez gune hezeak ez polimeroren tantarik aurkezten eta kolektoretik erraz erauzi daitekeen. SEM irudien bidez (ikus 2. taula) zuntzen morfologiak aztertuz, zuntz porotsu eta homogeenak lortu direla ondorioztatu daiteke. Zuntz-sare hau eta bere propietateak erreferentzia gisa hartu dira.

2. taula. Erreferentziatzen hartu den zuntz-sarearen SEM irudia eta hau lortzeko ezarritako parametroak

Parametroak	Ezarritako balioa	Nanozuntzen SEM irudia	Kontaktu-angelua
Aplikaturako tentsioa	9,5 kV		
Emaria	1,75 ml/h		
Irulea eta kolektorearen arteko distantzia	21,5 cm (bertikalean)		
Hezetasun erlatiboa	Giro-hezetasuna		

Behin zuntzak osatuta, hauek PRP-a xurgatzeko duten ahalmena aztertu da. PCLa material hidrofobikoa denez, biopolimero honen zuntz-sareek kontaktu-angelu handia (hidrofobitatearen neurri erlatiboa) aurkezten dute; batez bestekoa 85° izanik, hain zuzen ere. Baldintza hauetan PRPren eransketa asko zaildu daiteke.

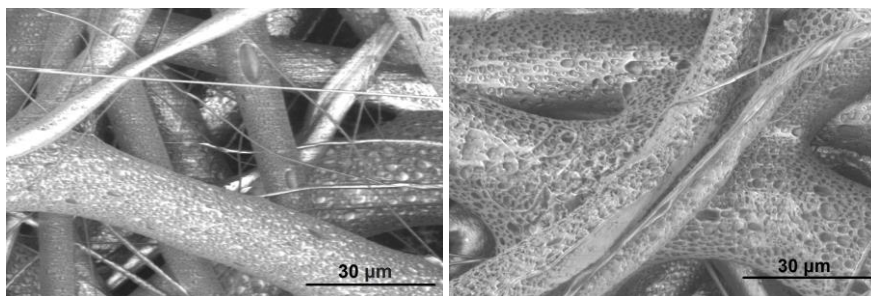
Ikerketen arabera, zuntzen morfologia erregulatuz, hala nola, hauen porositatea, zimurtasuna edo zirrikutasuna, zuntzen propietateak eta jokaera aldatu eta hobetu daitezke (Zaarour et al., 2018). Ondorioz, alde batetik, hezetasun maila ezberdinetan lortutako nanozuntzen propietate hidrofoboak aztertu dira; eta bestetik, nanozuntzen funtzionalizazio kimikoak, sodio hidroxido (NaOH) disoluzioetan murgilduz, duen eragina aztertu da. Nanozuntzen diametro eta poroen tamaina ImageJ software irekia erabiliz neurtu da. Nanozuntz-sare bakoitzeko 20 neurketa egin dira. Kontaktu-angelua neurtzeko, nanozuntzetara ur-destilatu tanta bat bota eta tanta honi argazkia ateratzen neurtu da.

3.1. Hezetasun mailaren eragina

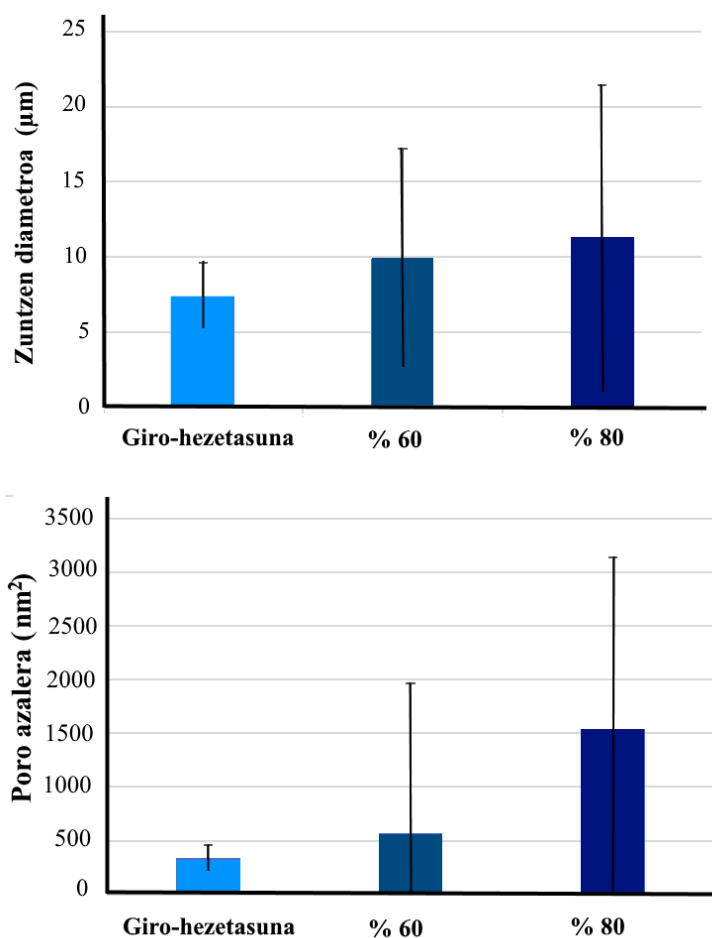
Zuntz berri hauen tamaina eta morfologiari dagokionez, nanozuntz ezberdinak jaso dira giro-hezetasunean eta hezetasun erlatiboa % 60-ra eta % 80-ra areagotzean. Hezetasun erlatiboa altua izatean azaleko poroak bistakoak dira (ikus 2. irudia). Hezetasun erlatiboa areagotzean poro kopurua eta diametroa handitu dira (ikus 3. irudia). Beraz, hezetasun mailak gora egin ahala, diametro handiagoko eta porotsuagoak diren zuntzak lortzen direla ondorioztatu da. Aipatzekoa da, erreferentziako laginak aurkezten zituzten zuntz erregular eta homogeenak aurkitu ordez, ordenarik gabeko, adarkaduradun eta morfologia ezberdineko zuntzak ikusi direla.

Hezetasun erlatiboa % 80-ra areagotzean, zuntzetan, 90° -ko kontaktu-angelua lortu da. Honek PCLak hidrofobikoa izaten jarraitzen duela adierazten du, eta beraz, PRP-estaldura gehitzeko arazoak aurkeztuko lituzkela.

2. irudia. Azaleko poroak % 60 (ezker) eta % 80 (eskuin) hezetasun erlatiboan, hurrenez hurren



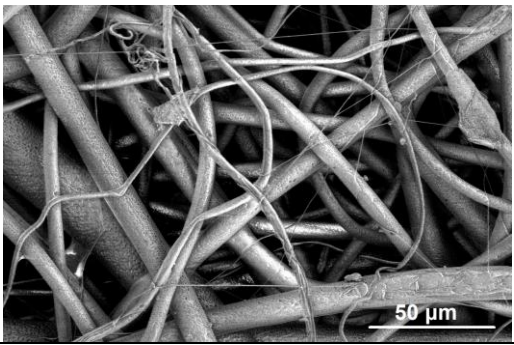
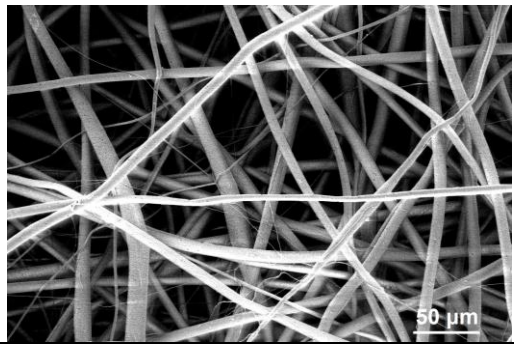
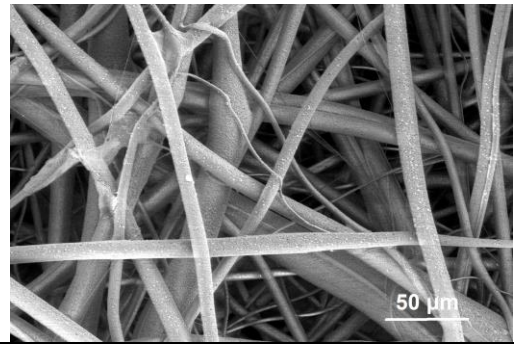
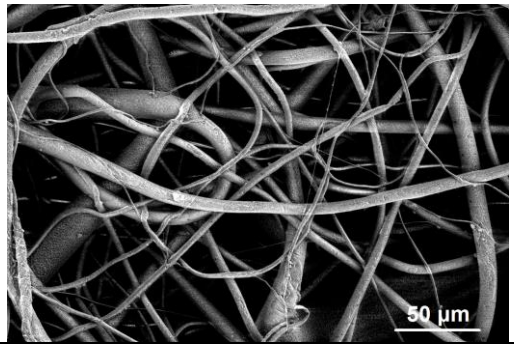
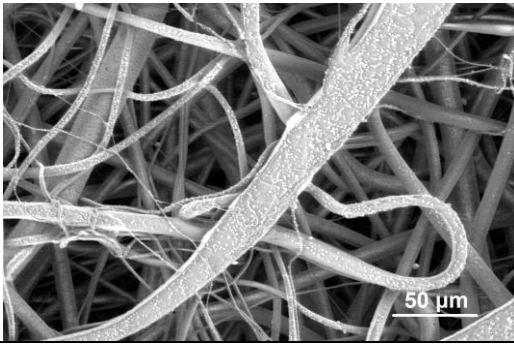
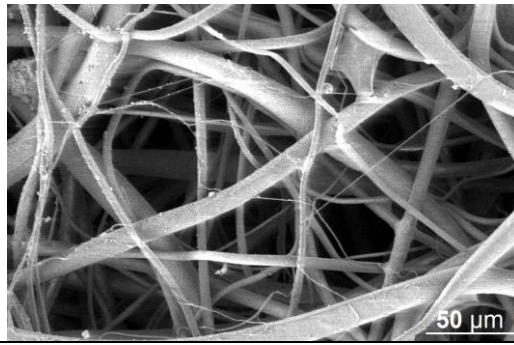
3. irudia. Hezetasun erlatibo ezberdinetan lortutako batez besteko diametroak (goian) eta poroen azalera (behean)



3.2. Funtzionalizazio kimikoa

Gainazal baten hidrofobitasuna gainazal honen azaleko energia askea areagotzean txikitzen da. Funtzionalizazio kimikoa oso erabilia izan da zelulekin interakzio hobek lortzeko, degradazio denbora murrizteko, gainazala hidrofilikoa bihurtzeko edo PCLen gainazaleko hezegarritasuna handitzeko (Park et al., 2007). Beraz, lortutako nanozuntzak NaOH soluzioan murgildu dira. Erabilitako soluzioen kontzentrazioak 1 M eta 3 M izan dira eta zuntzak bertan murgildutako denbora 30 min, 3 h eta 24 h izan da. Lagin bakoitza, murgiltze-denbora pasa eta gero, ur destilatuarekin garbitu eta giro-tenperaturan lehortzen utzi da. Lortutako zuntzak beheko taulan ikus daitezke (ikus 3. taula).

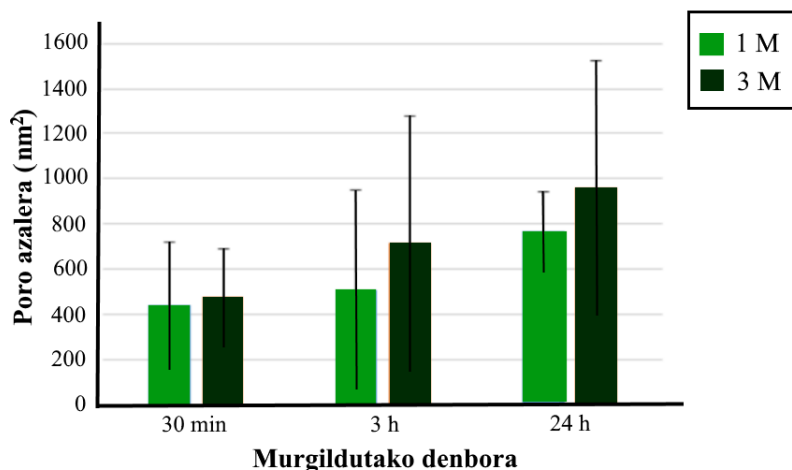
3. taula. NaOH tratamendua eta gero lortutako zuntzak

Murgildutako denbora	Murgildutako soluzioa	
	1 M	3 M
30 min		
3 h		
24 h		

Aipagarria da nola, gaingiroki, PCL zuntzen diametroa ia iraunkor mantendu den NaOH tratamendua ondoren bai 1 M eta 3 M soluzioetarako, nahiz eta murgilketa denbora ezberdinak egon diren. Honek garrantzia handia dauka, tratamendu alkalino ostean zuntzen diametroa drastikoki gutxituko balitz, hauen propietate mekanikoak asko aldatuko liratelako eta zuntzak ez liratelako gai izango bere funtzioa behar bezala betetzeko. Zuntzen morfologiari dagokionez, poroen azalera aldaketak agerikoak izan dira (ikus 4. irudia).

Oro har, lagina zenbat eta denbora gehiago murgilduta egon, orduan eta azalera porotsuagoa duela ikusi da. Halaber, zenbat eta kontzentratuagoa izan soluzioa, orduan eta poro azalera handiagoa neurtu da. Aipatzekoa da tratamendua eta gero zuntzen porositateak gora egin badu ere, lortutako poroak ez direla hezetasun erlatibo altuekin lan egitean lortutako poroak bezain handiak, poro hauen distribuzioa nahiko konstante mantentzen dela eta aurrekoak baino forma erregularragoa aurkezten dutela. Bereiztekoa da kiribilduagoko zuntzak lortzen direla tratamendu ostean, zuntzen gainazala zimirtsuagoa sorraraziz.

4. irudia. Denbora ezberdinez murgildutako zuntzen poroen azalera



Propietate hidrofobikoari dagokionez, kontaktu-angelu txikiagoak lortu dira; murgiltze-denborak gora egin ahala, eta soluzioa zenbat eta kontzentratuagoa izan, orduan eta kontaktu-angelu txikiagoak neurtu dira (ikus 4. taula). Hortaz, NaOH tratamendua burutu ostean, eta zuntzak bertan denbora nahikoz murgilduta egonda, lortutako zuntzak hidrofiliakoak bihurtzea ahalbidetzen da.

4. taula. Tratamendua eta gero lortutako kontaktu-angeluen balioak

Murgildutako soluzioa	Murgildutako denbora	Kontaktu-angelua
1 M	30 min	83°
	3 h	77°
	24 h	58°
3 M	30 min	82°
	3 h	66°
	24 h	51°

4. Ondorioak

PCL zuntzak hidrofoboak dira eta ez dute PRP-estaldura onartuko. Lan honetan ikusienez, prozesuan zehar hezetan maila areagotuz zuntz porotsuak lortzen dira, zeinak zuntzen eta zelulen arteko interakzioa hobetu beharko lukete. Hala ere, porositate honek ez du zuntzen hidrofobitatea aldatzen eta PRP-estaldurari uko egiten jarraitzen diote zuntzek. NaOH tratamendu alkalino ostean, ordea, zuntzak nabarmenki hidrofiliakoagoak bilakatzen dira. Honek, zuntzak PRP-estaldura onartuko dutela adierazten du, eta behin estaldura zuntzetan erantsita egotean, hauek erabateko berriztapena, kaltetutako azal-geruzen birsortzea barne, eskaintzeko gai izango direla. Zuntzen eta zelulen arteko interakzioak hobetuko direla uste da eta nanozuntzak erlazio zelularrean, ugaltzean eta desberdintzapenean, baita ehun birsorkuntzan substratu fisiko bezala jokatzeko espero da. Hau da, NaOH tratamendu ostean lortutako zauri-jantzien errendimendu biologikoa hobetzea espero da.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Hurrengo pausua, Transfusio eta Giza Ehunen Euskal Zentroaren kolaborazioarekin zauri-jantzi hauek PRP gehitzean duten jokaera biologikoa aztertzea eta definitzea izango da. Hala

ere, orain arte lortutako zauri-jantziek abantailak eskaintzen badituzte ere, prozesu geldoa da PRP gehiketa. Odolaren zentrifugazioa dela eta lortzen diren plaketen hazkuntza- faktoreen aplikazio intradermikoan datza, eta lortzeko erabiltzen den odola gaixo berarena da. Elektrosinning medio PRP zuntzak lortzean zauri-jantziaren eraketa prozesua bizkortuko dela uste da, dena (zauri-jantzia eta PRP gehiketa) prozesu bakarrean egingo baita. Aldi berean, tratamendu eraginkorragoa eskainiko duela uste da, zauri-jantziak izango dituen plaketa kopurua, eta hortaz, izango duen hazkuntza-faktore kopurua, handiagoa izango baita. Hauek, lesio baten aurrean, odolaren galera saihesten dute eta ehunen birsorkuntza ahalbidetzen duten substantzia ezberdinak garraiatzen dituzte, lortutako zauri-jantziak ehun birsorkuntzarako aukera erakargarrian bihurtuz.

6. Erreferentziak

Augustine R, Kalarikkal N, eta Thomas S (2015): Clogging Free Electrospinning of Polycaprolactone Using Acetic Acid/Acetone Mixture. *Journal Polymer-Plastics Technology and Engineering* 55, 518-529.

Bosworth L.A, Clegg P, eta Downes S (2008): Electrospun nanofibres of polycaprolactone, and their use for tendon regeneration. *J Polym Environ* 20, 879–886.

Chen, H., Huang, J., Yu, J., Liu, S., eta Gu, P. (2011), Electrospun chitosan-graft-poly (ϵ -caprolactone)/poly (ϵ -caprolactone) cationic nanofibrous mats as potential scaffolds for skin tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol* 48, 13–19.

Jha, B.S., Colello, R.J., Bowman, J.R., Sell, S.A., Lee, K.D., Bigbee, J.W., Bowlin, G.L., Chow, W.N., Mathern, B.E., eta Simpson, D.G. (2011), Two pole air gap electrospinning: Fabrication of highly aligned, three-dimensional scaffolds for nerve reconstruction. *Acta Biomater* 7, 203–215.

Lionelli, G.T., eta Lawrence, W.T. (2003), Wound dressings. *Surg. Clin. North Am* 83, 617–638.

Park, J.S., Kim, J.-M., Lee, S.J., Lee, S.G., Jeong, Y.-K., Kim, S.E., eta Lee, S.C. (2007), Surface hydrolysis of fibrous poly(ϵ -caprolactone) scaffolds for enhanced osteoblast adhesion and proliferation. *Macromolecular Research* 15, 424–429.

Rodríguez-Flores, J., Palomar-Gallego, M.Sa., eta Torres-García-Denche (2011), Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial* 34, 8-17.

Sánchez, L.M.D., Rodríguez, L., eta López, M. (2013), Electrospinning: la era de las nanofibras. *Revista Iberoamericana de Polimeros* 14, 10-27.

Shim, I.K., Jung, M.R., Kim, K.H., Seol, Y.J., Park, Y.J., Park, W.H., eta Lee, S.J. (2010), Novel three-dimensional scaffolds of poly(L-lactic acid) microfibers using electrospinning and mechanical expansion: Fabrication and bone regeneration. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater* 95, 150–160.

Tong, H.-W., Zhang, X., eta Wang, M. (2012), A new nanofiber fabrication technique based on coaxial electrospinning. *Materials Letters* 66, 257–260.

Univerza eta Mariboru (2013), Electrospinning: Nanofibre Production Method. *Tekstilec* 56, 4–12.

Zaarour, B., Zhu, L., Huang, C., eta Jin, X. (2018), Controlling the secondary surface morphology of electrospun PVDF nanofibers by regulating the solvent and relative humidity. *Nanoscale research letters* 13:285.

Zhu, N., eta Chen, X. (2013): *Biofabrication of Tissue Scaffolds. Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*. IntechOpen, London, Erresuma Batua.

Zong, X., Bien, H., Chung, C.-Y., Yin, L., Fang, D., Hsiao, B.S., Chu, B., eta Entcheva, E. (2005), Electrospun fine-textured scaffolds for heart tissue constructs. *Biomaterials* 26, 5330–5338.