

MATERIALES COMPUESTOS POR ELECTROHILADO PARA SU USO EN INGENIERÍA DE TEJIDOS

Dra. María G. Flores Sánchez

Vicerrectoría de Investigación, Universidad La
Salle México

Dr. Roberto Olayo González

Departamento de Física, Universidad Autónoma
Metropolitana, Iztapalapa

Abstract

This work shows the potential of the electrospinning technique in the generation of composite scaffolds and based on the parameters of this technique and the conditions of the precursor solution used, the result is structures made up of fibers with different diameters and pore sizes, capable of allowing the passage of cells and nutrients within the scaffold, suitable for allowing cell adhesion and proliferation; the characterization of these scaffolds is presented using techniques such as Scanning Electron Microscopy (SEM), Raman Microscopy, and through the analysis and distribution of pores using the ImageJ computer program.

Keywords: Electrospinning, Composite Biomaterials, Tissue Engineering

Resumen

En este trabajo se muestra el potencial que tiene la técnica de Electrohilado en la generación de andamios compuestos y en base a los parámetros de dicha técnica y las condiciones de la solución precursora utilizada, se tiene como resultado estructuras conformadas por fibras con diferentes diámetros y tamaños de poro, capaces de permitir el paso de células y nutrientes dentro del andamio, adecuado para permitir la adhesión y proliferación celular; se presenta la caracterización de estos andamios usando técnicas como Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), Microscopía Raman, y mediante el análisis y la distribución de poro haciendo uso de programa de cómputo ImageJ.

Palabras clave: Electrohilado, Biomateriales compuestos, Ingeniería de Tejidos

I. Introducción

Desde hace más de 30 años se ha estudiado la Ingeniería de Tejidos, descrita como la combinación entre células, andamios y factores de crecimiento para dar lugar a nuevos tejidos, de tal manera que se regenere o restaure el tejido u órgano dañado debido a alguna patología o traumatismo, dentro de estos tejidos se encuentran la piel, los huesos, el cartílago, entre otros, los cuales abordados a partir de esta área interdisciplinaria aún siguen teniendo limitantes y retos significativos pero con avances que cada vez se acercan más a alternativas prometedoras dentro del campo.

El electrohilado es una técnica de fabricación basada en el concepto de carga electrostática, en donde una solución generalmente polimérica es inyectada desde un electrodo positivo (inyector) hasta un electrodo negativo (colector) bajo la acción de un campo electromagnético, el cual rompe la tensión superficial que se tiene en la punta del inyector donde se forma el cono de Taylor, dando como resultado micro y nanofibras, (Figura 1). Esta técnica utiliza altos voltajes arriba de 1 KV (Jiyao *et al.*, 2023, Zulkifli *et al.*, 2023).

El principio del electrohilado está determinado por la interacción entre la tensión superficial y la viscosidad de la solución, ésta última debe ser lo suficientemente alta para permitir la formación del jet en el extremo de la aguja y evitar que la solución se disperse en forma de spray, es decir, a concentraciones más altas del polímero, sus cadenas se enredan, lo que evita la ruptura del chorro y permitirá la formación de nano y microfibras, la mayoría de los polímeros utilizados que

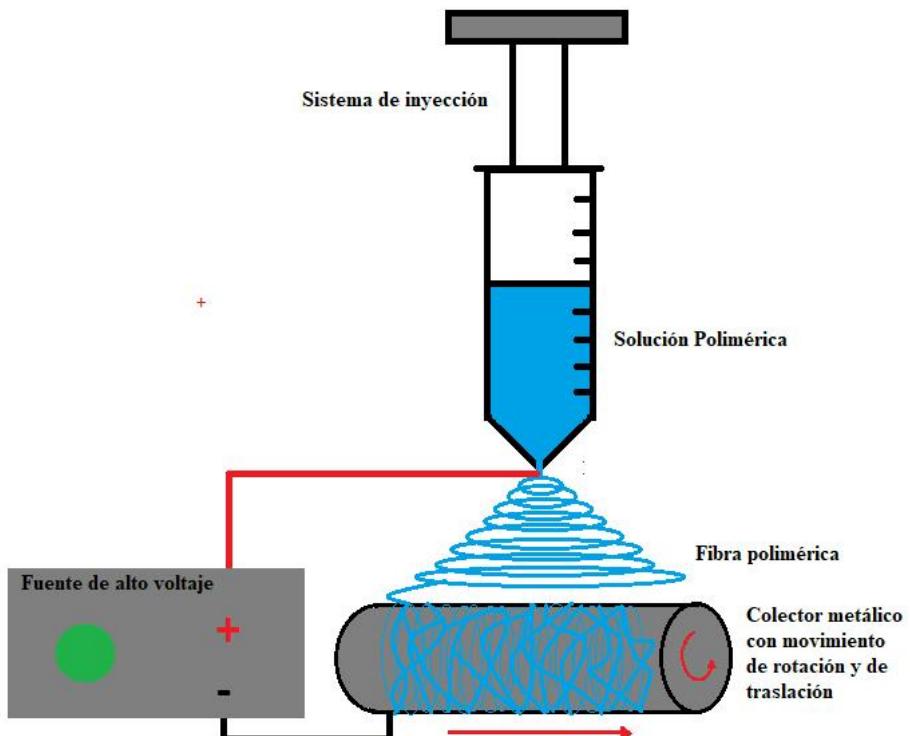


Figura 1: Sistema de electrohilado.

han dado buenos resultados en esta técnica van de los 50000 a los 150000 Da disueltos en soluciones líquidas donde el disolvente es del 10% aproximadamente.

Esta técnica ha ido evolucionando en la fabricación de mallas compuestas de micro y nanofibras utilizadas en medicina regenerativa e Ingeniería de Tejidos, además, es versátil y adaptable según la morfología y las características que se requieren para poder dar soporte, promoviendo adhesión y proliferación a las células que se colocan en estas mallas porosas con alta relación superficie-volúmen (Yang C. *et al.*, 2021, Hadi *et al.*, 2020). Por supuesto, los materiales con los que se fabrican los andamios es fundamental para diversas aplicaciones, como la liberación de fármacos, filtración de agua, integración de factores de crecimiento, etc., para lo cual se utilizan principalmente polímeros sintéticos y naturales (Zhong

H., *et al.*, 2022, Shi *et al.*, 2022). En este trabajo se presenta una descripción de la potencialidad que tiene el utilizar la técnica de electrohilado en diferentes aplicaciones en el campo de la salud y se muestran algunos ejemplos de su uso dentro del grupo de investigación del área de polímeros haciendo especial énfasis en las características de los andamios compuestos de nano y microfibras que promueven la adhesión y proliferación celular y esto radica principalmente en la propuesta de los parámetros, el tipo de solución y polímeros utilizados acorde a la propuesta de solución para reparar algún tejido en específico, haciendo énfasis principalmente en los andamios para tejido epitelial, cardiaco y tejido óseo, caracterizados mediante microscopía electrónica de barrido y un programa computacional de análisis de distribución de fibra y tamaño de poro Image J.

Parámetros que afectan el electrohilado

Los principales parámetros que afectan el electrohilado son la solución precursora y el proceso de electrohilado:

En la solución precursora es importante considerar el peso molecular del polímero utilizado, así como su naturaleza y su arquitectura, es decir si es ramificada, lineal, etc.; también intervienen los efectos dieléctricos del solvente bajo los parámetros establecidos en la solución como la volatilidad del solvente, la tasa de evaporación, la reología; finalmente, se deben considerar las propiedades de la solución como la viscosidad, la conductividad y la tensión superficial.

Dentro de los parámetros del proceso de electrohilado se encuentran la velocidad de inyección, el diámetro de la aguja, la distancia entre los electrodos, la intensidad del voltaje, la temperatura, la atmósfera ambiental y la humedad, además, la forma y movimiento del colector.

El resultado del entremallado, tamaño de fibras y poro, es afectado por los parámetros anteriores, lo cual a su vez influye en las propiedades del biomaterial para ciertas aplicaciones en la Ingeniería de Tejidos.

Materiales utilizados en el electrohilado

La versatilidad del electrohilado hace posible la fabricación de biomateriales a base de polímeros, cerámicas, metales y compuestos. En este artículo hablaremos del proceso de biomateriales compuestos de polímero y cerámica mediante electrohilado.

Entre los polímeros que han dado buenos resultados al electrohilarse

se encuentran aquellos que son biodegradables como el poliácido láctico (Figura 2), (Flores *et al.*, 2018), el poliácido glicólico, la policaprolactona, y polímeros sintéticos, como el polietileno de vinilo, el poliuretano, el óxido de polietileno y el polivinil alcohol. También se han electrohilado polímeros naturales, como el colágeno, la gelatina, el quitosano, la proteína de seda, el ácido hialurónico, el fibrinógeno y la elastina. Se han utilizado ampliamente mezclas de polímeros para combinar las propiedades de los diferentes componentes; por ejemplo, algunas veces se utilizan mezclas de polímeros naturales y sintéticos para proporcionar fibras con una buena respuesta celular y buenas propiedades mecánicas (Zahra *et al.*, 2023, Mohammad Hossein, 2022).

La combinación de diferentes tipos de materiales es un enfoque prometedor para la producción de materiales electrohilados biomiméticos con actividades funcionales. Un ejemplo típico de un compuesto electrohilado es una matriz polimérica que contiene nanopartículas de hidroxiapatita que tienen como objetivo aumentar la respuesta celular en la regeneración del tejido óseo (Figura 3). El diámetro de la fibra se ve afectado por muchos parámetros, pero se controla principalmente variando el voltaje y la concentración de la solución de polímero, la distancia entre los electrodos y el diámetro de la jeringa en el sistema de inyección (Flores *et. al* 2028).

La estructura interna de los entremallados o la disposición de las fibras se puede modificar haciendo uso de diferentes electrodos de recolección; según su aplicación, se ha encontrado que los electrodos fijos dan como resultado fibras dispuestas de forma aleatoria, mientras que si se tiene

electrodo giratorio las fibras resultan en un acomodo más lineal, y si se usan más de una aguja en el sistema de inyección, lo que se conoce como sistema de inyección coaxial, entonces se pueden combinar diferentes biomateriales dando estructuras compuestas incluso entre materiales que sí se pueden electrohilar y aquellos que no, lo que

en la estructura resultante favorece el soporte ya que mejora sus propiedades mecánicas e incluso la introducción de nutrientes a la malla, lo cual es favorecedor cuando se depositan células en éstas y cuando los materiales utilizados son biocompatibles.

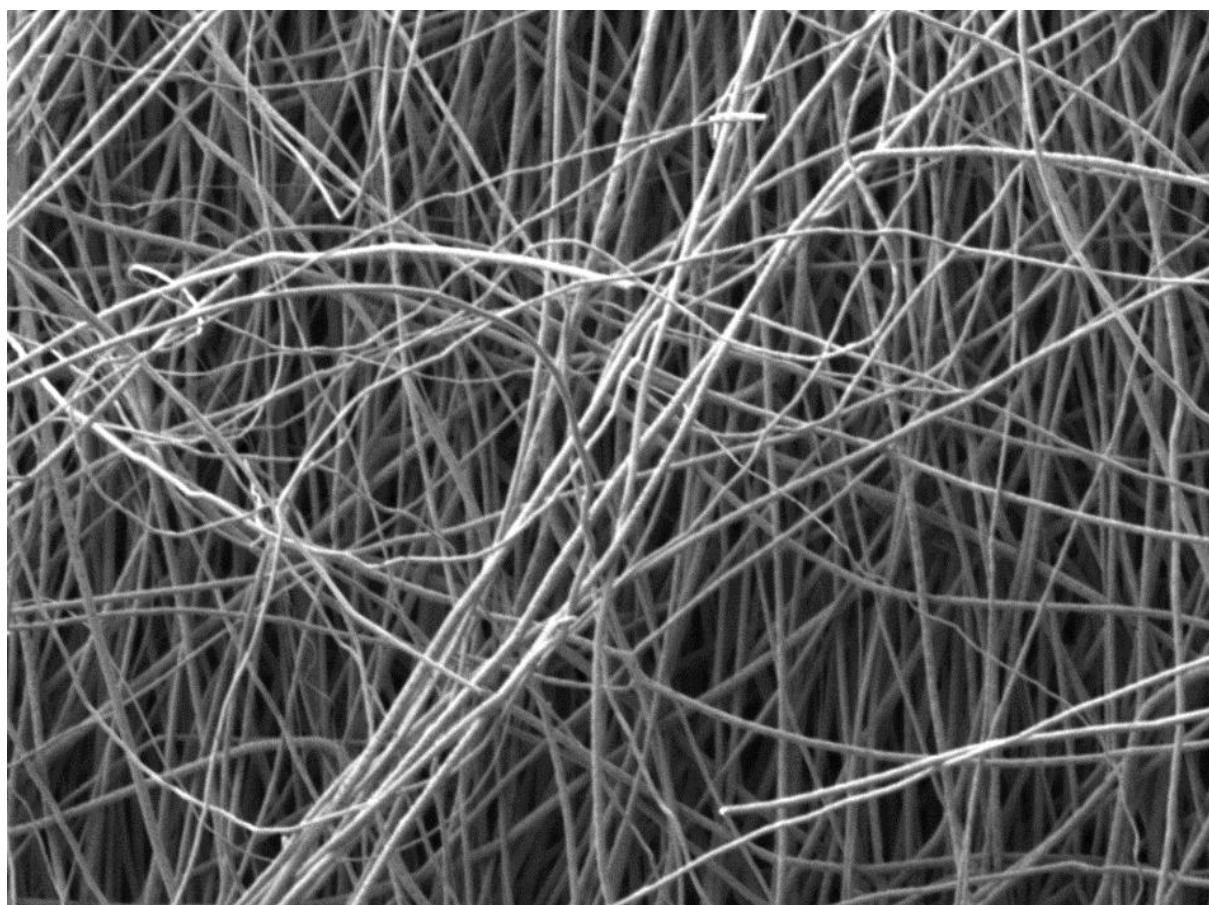


Figura 2: Fibras de electrohilado de Ácido Poliláctico (Flores *et al.*, 2018).

Aplicación de biomateriales fabricados con electrohilado

Un biomaterial es aquel que tiene propiedades para poder interactuar con los tejidos vivos, en la Ingeniería de Tejidos los biomateriales fabricados con electrohilado han sido útiles debido a las nano y microfibras que tienen en su estructura y que imitan a las fibras que conforman a los tejidos y órganos, además de que cuentan con

una relación superficie-volumen alta; dentro de sus aplicaciones en el área de la salud se encuentra su uso en la liberación controlada de fármacos, suturas, implantes para cicatrización de heridas o quemaduras, principalmente (Zahra *et al.*, 2023, Mohammad *et al.*, 2023).

El uso de electrohilado en Ingeniería de tejidos tiene la ventaja de proveer las

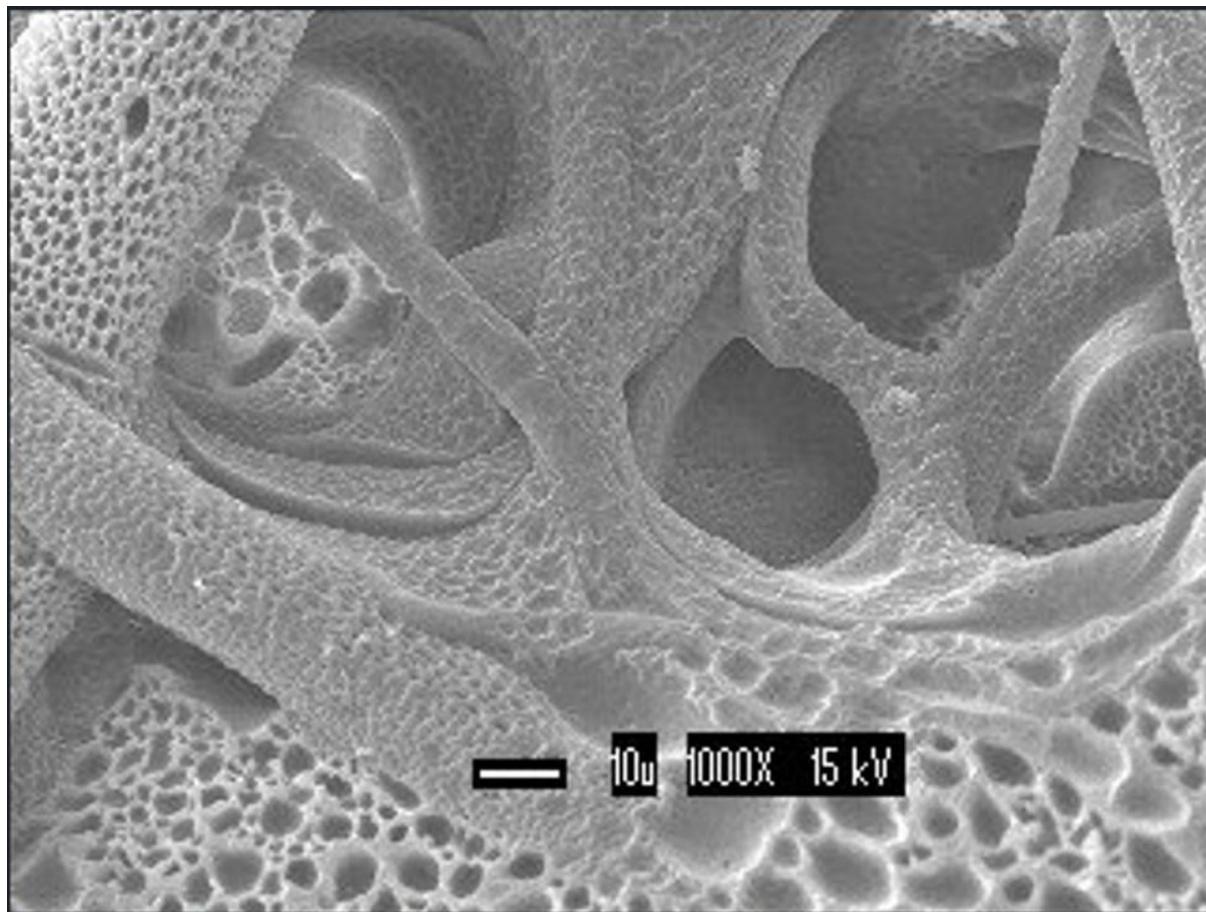


Figura 3: Fibras de electrohilado de Ácido Poliláctico/Hidroxiapatita (Flores *et al.*, 2018).

condiciones necesarias a los andamios de tal manera que sean capaces de generar adhesión y proliferación celular, además, dependiendo del caso, se pueden modificar las propiedades de activación de la superficie y capacidades mecánicas, en el tejido óseo por ejemplo, tener un andamio biocompatibles, bioactivo y mecánicamente adecuado es imprescindible para que las células óseas puedan adherirse y proliferar e imitar la matriz extracelular del tejido a reparar o regenerar, de tal manera que cuando esto sucede, los biomateriales se biodegradan a una tasa particular la cual depende de su naturaleza.

Electrohilado en Ingeniería de tejido epitelial

En la reparación de heridas por quemaduras o debido a patologías como la diabetes donde el daño al tejido puede

ser leve o severo, se ha utilizado el electrohilado y distintos biomateriales para regenerar el tejido debido a su capacidad de adhesión y migración de células y nutrientes en el interior de la estructura que imita las fibras de colágeno del tejido nativo, en este tipo de aplicaciones, la orientación de las fibras es importante ya que de ello depende la aceleración con la que se repara el tejido; se ha visto que andamios construidos con fibras alineadas en conjunto con capas distribuidas aleatoriamente, son viables y dieron buenos resultados en la proliferación de fibroblastos y queratinocitos, usando como base de la solución polimérica Policaprolactona y Quitosano en heridas en modelo animal de rata (Sun L. *et al.*, 2018, Pal P. *et al.*, 2017). Para heridas relacionadas con diabetes, se han utilizado andamios construidos por

fibras alineadas en forma vertical y en forma radial haciendo uso de células troncales mesenquimales extraídas a partir de médula ósea, donde se observó que bajo presión, las células recuperan su forma, lo que es de gran utilidad en heridas por diabetes tipo 2, además de que promueve la formación de colágeno e inhiben la formación de moléculas proinflamatorias (Chen S. *et al.*, 2020) e infecciones (Villarreal-Gómez *et al.*, 2021), además de que al combinar esta técnica con componentes bioactivos, se imitan las características estructurales y biológicas de la matriz extracelular para promover la regeneración completa del tejido cutáneo lesionado.

Electrohilado en Ingeniería de tejido cartilaginoso

El electrohilado para reparación de cartílago ha sido ampliamente estudiado debido al confort que promueve en las personas que tienen alguna afectación por patología o simplemente por el desgaste debido a la edad y a la actividad a lo largo del tiempo; se han hecho varias propuestas donde el enfoque principal radica en estudiar la presión máxima que puede soportar el tejido esto debido a que existen diferentes tipos de cartílago y donde es de suma importancia la construcción biológica ya que uno de los tipos carece de vasos sanguíneos donde el reto es aún mayor y se deben considerar además las zonas de la estructura, es decir, aquellas donde se tiene la transición entre el hueso y el músculo, de tal manera que los polímeros, células y factores de crecimiento que se utilicen harán la diferencia dentro de la aplicación específica (Chung C. *et al.*, 2008, Irawan V. *et al.*, 2018). El polímero más utilizado para cartílago en Ingeniería de Tejidos es la policaprolactona usando células madre mesenquimales humanas (Wise J. *et al.*, 2009), y otro añadiendo factor de

crecimiento transformante, promoviendo la estimulación de la condrogénesis in vitro (Yan B. *et al.*, 2022).

Electrohilado en Ingeniería de tejido cardiaco

Durante varias décadas, la ingeniería de tejidos ha evolucionado para inducir la creación de tejido cardíaco funcional. Los nanomateriales electrohilados son buenos como andamios conductores y adecuados para las células del corazón y los vasos sanguíneos. Ha habido una amplia investigación sobre injertos vasculares, válvulas cardíacas artificiales e ingeniería de tejidos miocárdicos en particular en los últimos años.

Aunque el estándar de oro para el reemplazo vascular sigue siendo el autoinyerto, éste se encuentra limitado por la escasez de donantes y la lesión del sitio secundario, además de los costos que ello implica. Hoy en día sigue siendo un reto a nivel mundial el desarrollar nuevos injertos de diámetro pequeño con endotelización rápida y sin complicaciones en trombosis para lo que diversas investigaciones están centradas en biomateriales electrohilados, por ejemplo, se utilizó electrohilado simple para llenar nanofibras con ácido salvianólico B y heparina extraída de Salvia, lo que mostró la prevención eficaz prevenir eficaz de trombosis aguda y promovió la endotelización rápida de los vasos sanguíneos. Jiayin *et al.* hilaron electrostáticamente diferentes espesores de PCL sobre sebacato de poliglicerol poroso (PGS) y descubrieron que las fibras de PCL más gruesas y más porosas contaban con mayor capacidad de promover la angiogénesis además de que mostraron mejores propiedades mecánicas que los grupos con menor diámetro. También se ha usado la técnica de electrohilado coaxial para

crear una combinación de ECM natural y polímeros sintéticos degradables, y luego los utilizaron como injertos vasculares para experimentos con animales. Los injertos mostraron una liberación sostenida de ácido hialurónico y promovieron la regeneración del músculo vascular liso. Por lo que los injertos vasculares biomiméticos que utilizan nanofibras electrohiladas tienen potencial un en la reparación y regeneración vascular (Yan, B *et al.*, 2022).

Electrohilado en Ingeniería de tejido óseo

La Ingeniería de Tejido óseo es un campo interdisciplinario en el cual se utilizan células, factores de crecimiento y andamios o soportes celulares para regenerar al hueso. Los biomateriales deben ser cuidadosamente seleccionados considerando biocompatibilidad, propiedades físico-químicas, tasa de biodegradación, bioactivación, y que promuevan la diferenciación osteogénica, etc., las cuales confieren un ambiente adecuado para las células que se siembran en éstos, dentro de los más utilizados se encuentran aquellos compuestos por polímeros y cerámicas, y que además, son susceptibles de ser utilizados para fabricar andamios entremallados mediante el electrohilado.

En este trabajo, se muestra que para la Ingeniería de Tejido Óseo, los materiales que han dado mejores resultados son compuestos por Hidroxiapatita (HA) y Ácido Poliláctico (PLA); siendo el Ácido Poliláctico un polímero biodegradable y biocompatible que ha sido utilizado en la clínica de ortopedia para la construcción de placas y tornillos, además es de fácil acceso y de bajo costo; mientras que la Hidroxiapatita es el componente principal del tejido óseo y al que se atribuye la rigidez que éste posee, es un

material osteoinductivo que promueve la adhesión y proliferación de osteoblastos (Flores *et al.*, 2018).

Preparación de la solución precursora compuesta de PLA/HA

Para electrohilar la solución precursora, fue importante establecer las cantidades de soluto y solvente buscando obtener una solución conductora y con una viscosidad tal que el campo eléctrico aplicado pueda estirarla sin romperla desde el electrodo positivo hasta el electrodo negativo; para generar una propuesta de solución de PLA e HA, se encontró una mezcla en proporción de 10 mL de disolvente, 90% cloroformo (9 mL) y 10% etanol (1 mL); en cuanto al soluto, se realizaron pruebas añadiendo a la solución PLA/HA; para éste proceso fue necesario añadir el PLA mediante agitación suave por 5 horas a temperatura ambiente y después añadir la HA e inmediatamente llevar al sistema de Electrohilado. También se adiciona etanol a la solución ya que ayuda a mejorar la homogenización del hilado haciendo que la morfología de las fibras varíe simultáneamente y aumentan la polaridad de la solución y permiten que el solvente se evapore más rápido mientras que las fibras se van depositando en el electrodo negativo o sustrato de recolección. Debido a que es de gran interés conocer la concentración de HA presente en las matrices, se calcularon dichas concentraciones de HA para algunas de las soluciones empleadas con el propósito de hacer comparaciones entre las muestras, lo que finalmente representó un porcentaje de HA del 18.1% y 35.7% fue el máximo para ese experimento, porcentaje que es significativo si se considera que la parte inorgánica del hueso es del 60% la cual provee soporte mecánico para el movimiento, da protección a órganos vitales y regula la homeostasis mineral.

Condiciones del sistema de electrohilado

En el electrohilado normalmente las soluciones se preparan a temperatura ambiente. Se utilizan voltajes altos entre 10KV a 30KV, a las soluciones poliméricas de alta densidad molecular descritas en el punto anterior, desde una aguja inyectora hacia una superficie metálica colectora en donde se solidifica formando micro y nanofibras con diámetros alrededor de 50 nanómetros y hasta algunas micras, y de longitudes variables. Los materiales que se utilizan en esta técnica son principalmente polímeros porque estos tienen las propiedades físicas y químicas para

formar fibras que sean resistentes, que confieran cierta elasticidad y que sean duraderas. Se le denomina co-electrohilado cuando la solución precursora está formada por un polímero con partículas inmersas en él (Figura 4).

Morfología de las fibras de PLA mediante SEM y RAMAN

La espectroscopía Raman, es una técnica de dispersión de luz no destructivas que permiten estudiar diversos tipos de entremallados o biomateriales compuestos, lo cual es de gran utilidad ya que permite distinguir la distribución dentro del scaffold de cada material contenido en éste, (Figura 4).

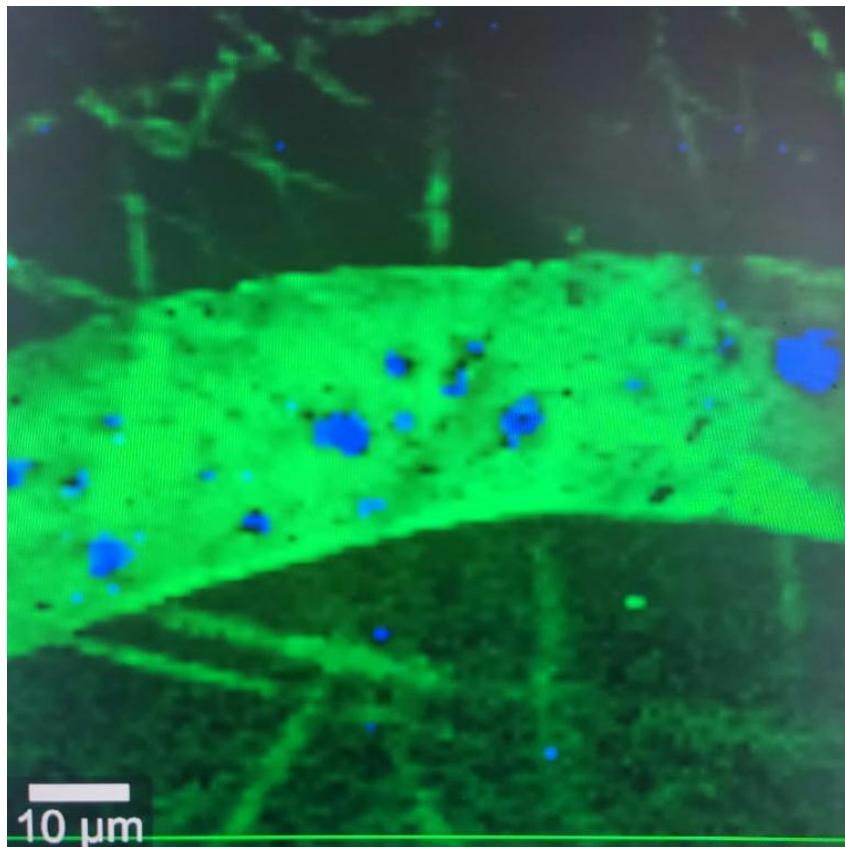


Figura 4: Microscopía RAMAN de fibras electrohiladas de PLA(verde) con PVA (azul), distribuidas de manera aleatoria y que efectivamente confirman la presencia de ambos polímeros que fueron previamente cargados en la solución en el sistema de inyección, además de que se observan poros de diferentes tamaños y diámetro de fibras también con diferencias significativas, predominando en este caso las de PLA.

Análisis de la distribución de las fibras mediante IMAGEJ

Image J es un programa de cómputo que se utiliza para hacer el análisis de la distribución de fibras, el diámetro de éstas y el tamaño de poro dentro de un andamio, esto es de gran utilidad ya que

con ello se puede estimar el paso celular a través de las mallas, debido a que en promedio del diámetro de una célula es de 10 micras, además de que también se cuenta con el paso de nutrientes necesarios para que las células puedan sobrevivir (Figura 5)

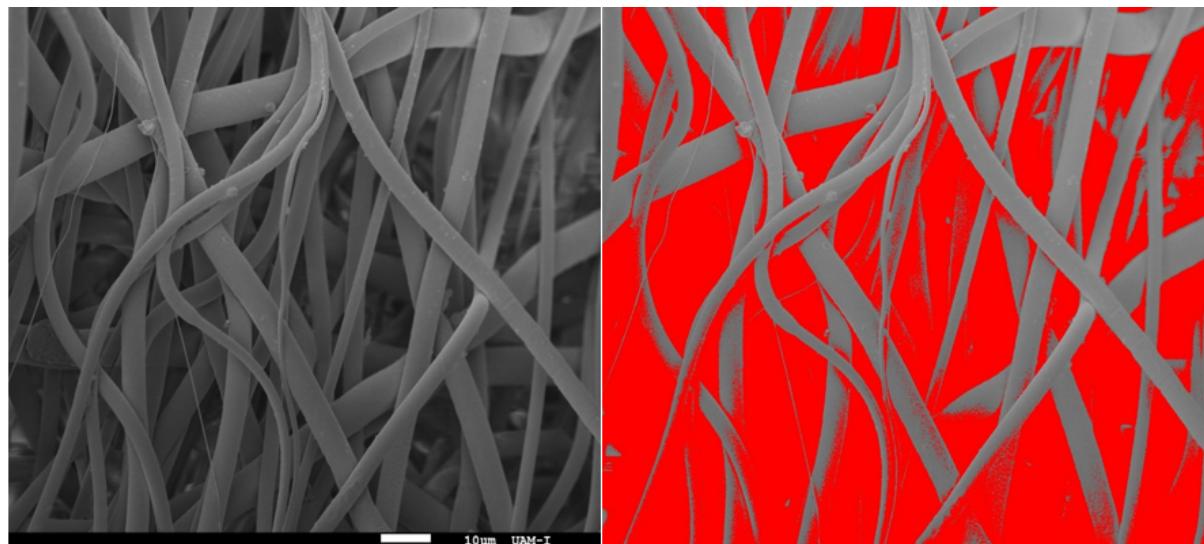


Figura 5: Fibras de electrohilado de Ácido Poliláctico distribuidas aleatoriamente, el análisis se realizó mediante el programa de cómputo Image J, en base a imágenes obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Barrido el area roja nos permite evaluar la porosidad aparente y ver si el andamio es adecuado para ingeniería de tejidos.

Conclusiones

La técnica de Electrohilado sigue siendo una herramienta útil en la construcción de andamios compuestos de uno o más materiales, la cual provee de una estructura porosa suficiente para que las células puedan permear dentro del material y favorecer así a la adhesión, proliferación celular y construcción de la matriz extracelular. Es importante destacar que dependiendo del polímero y la cerámica que se utilicen, es la concentración que se tiene que establecer para que el sistema de electrohilado pueda hacer el estiramiento y deposición de manera correcta en el sustrato de recolección, por lo que hallar las condiciones del sistema tales como el voltaje utilizado,

la distancia entre emisor y colector, la velocidad de inyección, el diámetro de la aguja de inyección, la temperatura a la que se inyecta, y por supuesto la solución precursora son fundamentales para lograr un entremallado con fibras nano y micrométricas y tamaño de poro adecuado para el nicho celular. Las diferentes técnicas de caracterización son útiles para confirmar un electrohilado exitoso según la aplicación objetivo, destacando para este caso que los materiales utilizados se conservan en los entremallados, se tiene el tamaño de poro adecuado para la transferencia de nutrientes y células a través de éstos, diversidad de diámetros los cuales a su vez confieren soporte, adherencia celular y capacidad

de proliferación celular.

Referencias

- [1] Jiayao Xing, Miao Zhang, Xinlin Liu, Chao Wang, Nannan Xu, Dongming Xing, Multi-material electrospinning: from methods to biomedical applications, *Materials Today Bio*, Volume 21, 2023, 100710, ISSN 2590-0064, <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100710>.
- [2] Zulkifli, M.Z.A.; Nordin, D.; Shaari, N.; Kamarudin, S.K. Overview of Electrospinning for Tissue Engineering Applications. *Polymers* 2023, 15, 2418. <https://doi.org/10.3390/polym15112418>.
- [3] Yang, C.; Shao, Q.; Han, Y.; Liu, Q.; He, L.; Sun, Q.; Ruan, S. Fibers by Electrospinning and Their Emerging Applications in Bone Tissue Engineering. *Appl. Sci.* 2021, 11, 9082. <https://doi.org/10.3390/app11199082>.
- [4] Hadi Saniei, Sayedali Mousavi, Surface modification of PLA 3D-printed implants by electrospinning with enhanced bioactivity and cell affinity, *Polymer*, Volume 196, 2020, 122467, ISSN 0032-3861, <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2020.122467>.
- [5] Zhong H, Huang J, Wu J, et al. Electrospinning nanofibers to 1D, 2D, and 3D scaffolds and their biomedical applications. *Nano Research*, 2022, 15(2): 787-804. <https://doi.org/10.1007/s12274-021-3593-7>
- [6] Shi, Shuo & Si, Yifan & Han, Yanting & Iqbal, Mohammad Irfan & Fei, Bin & Li, Robert & Hu, Jinlian & Qu, Jinping. (2022). Recent Progress in Protective Membranes Fabricated Via Electrospinning: Advanced Materials, Biomimetic Structures, and Functional Applications. *Advanced Materials*. 34. 2107938. 10.1002/adma.202107938.
- [7] Flores-Sánchez María G., Atlántida M. Raya-Rivera, Diego R. Esquillano-Rendon, Patricia G. Ontiveros-Nevares, Nancy C. Islas-Arteaga, Juan Morales-Corona & RobertoOlayo (2018) Scaffolds of polylactic acid/hydroxyapatite coated by plasma with polypyrrole-iodine for the generation of neo-tissue–bone in vivo: Study in rabbit, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 67:7, 427-437, DOI: 10.1080/00914037.2017.1342249.
- [8] Zahra Khalilimofrad, Hadi Baharifar, Azadeh Asefnejad, Kamyar Khoshnevisan, Collagen type I cross-linked to gelatin/chitosan electrospun mats: Application for skin tissue engineering, *Materials Today Communications*, Volume 35, 2023, 105889, ISSN 2352-4928, <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.105889>.
- [9] Mohammad Hossein Mirmusavi, Mehdi Ahmadian, Saeed Karbasi, Polycaprolactone-chitosan/multi-walled carbon nanotube: A highly strengthened electrospun nanocomposite scaffold for cartilage tissue engineering, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 209, Part B, 2022, Pages 1801-1814, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.04.152>.
- [10] Sun L, Gao W, Fu X, Shi M, Xie W, Zhang W, Zhao F, Chen X (2018) Enhanced wound healing in diabetic rats by nanofibrous scaffolds mimicking the Basketweave

- pattern of collagen fibrils in native skin. *Biomater Sci* 6:340–349. <https://doi.org/10.1039/c7bm00545h>.
- [11] Pal P, Srivas PK, Dadhich P, Das B, Maulik D, Dhara S (2017) Nano- /microfibrous cotton-wool-like 3D scaffold with core-shell architecture by emulsion electrospinning for skin tissue regeneration. *ACS Biomater Sci Eng* 3:3563–3575. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.7b00681>
- [12] Chen S, Wang H, Su Y, John JV, McCarthy A, Wong SL, Xie J (2020) Mesenchymal stem cell-laden, personalized 3D scaffolds with controlled structure and fiber alignment promote diabetic wound healing. *Acta Biomater* 108:153–167. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.03.035>
- [13] Villarreal-Gómez, L.J.; Pérez-González, G.L.; Bogdanchikova, N.; Pestryakov, A.; Nimaev, V.; Soloveva, A.; Cornejo-Bravo, J.M.; Toledoño-Magaña, Y. Antimicrobial Effect of Electrospun Nanofibers Loaded with Silver Nanoparticles: Influence of Ag Incorporation Method. *J. Nanomater.* 2021, 2021, 9920755.
- [14] Chung C. and Burdick J. A., Engineering cartilage tissue, *Advanced Drug Delivery Reviews*. (2008) 60, no. 2, 243–262, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.08.027>, 2-s2.0-36849028030, 17976858.
- [15] Irawan V., Sung T. C., Higuchi A., and Ikoma T., Collagen scaffolds in cartilage tissue engineering and relevant approaches for future development, *Tissue engineering and regenerative medicine*. (2018) 15, no. 6, 673–697, <https://doi.org/10.1007/s13770-018-0135-9>, 2-s2.0-85057026834, 30603588.
- [16] Wise J. K., Yarin A. L., Megaridis C. M., and Cho M., Chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on oriented nanofibrous scaffolds: engineering the superficial zone of articular cartilage, *Tissue Engineering Part A*. (2009) 15, no. 4, 913–921, <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2008.0109>, 2-s2.0-067049167743, 18767972.
- [17] Yan, B., Zhang, Y., Li, Z. *et al.* Electrospun nanofibrous membrane for biomedical application. *SN Appl. Sci.* 4, 172 (2022). <https://doi.org/10.1007/s42452-022-05056-2>.