



مهندس پیمان شیخ الاسلامی
کندلوسی، نویسنده‌ی اول مقاله،
دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل

سرامیک‌های زیستی و الکترورسی پیشرفته

پیمان شیخ الاسلامی کندلوسی*، سید محمود ربیعی

دانشکده مهندسی مواد و صنایع، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل

چکیده: در سال‌های اخیر تولید نانوالیاف با استفاده از روش الکترورسی‌سندگی به‌منظور کاربردهای پزشکی و ترمیم بافت آسیب دیده مورد توجه بسیاری از دانشمندان و محققان قرار گرفته است. مهم‌ترین ویژگی نانوالیاف الکترورسی‌سندگی، ساختار مشابه آن با ماتریکس خارج سلولی بومی می‌باشد. برای دستیابی به الیاف صاف، یکنواخت و بدون گره باید به انتخاب حلال و ماده پلیمری دقت کرد. طیف وسیعی از مواد زیستی از جمله پلیمر، سرامیک و کامپوزیت آنها برای اهداف مهندسی بافت کاربرد دارد. کامپوزیت سرامیک/پلیمر به دلیل زیست سازگاری، تجزیه پذیری زیستی و خواص مکانیکی مطلوب شرایط مناسبی را برای مهاجرت، چسبندگی، تکثیر سلولی و در نهایت رشد و جایگزینی بافت جدید فراهم می‌کند. هدف از این پژوهش، بررسی سرامیک‌ها، کامپوزیت سرامیک/پلیمر و مروری بر پیشرفت‌های اخیر در حوزه الکترورسی‌سندگی بوده است.

کلمات کلیدی: سرامیک‌ها، الکترورسی پیشرفته، کامپوزیت، الیاف.

۱- مقدمه

سرامیک‌های زیست فعال همچون هیدروکسی آپاتیت، تری کلسیم فسفات و شیشه‌های زیستی بطور گسترده در ساخت داربست‌های مهندسی بافت استفاده می‌شود. حضور آنها در محیط فیزیولوژیک بدن به علت فعالیت‌های سلولی موجب تشکیل پیوند سخت با بافت می‌گردد. عمدتاً سرامیک‌ها را با توجه به عدم انعطاف و تخریب‌پذیریشان و همچنین بهبود خواص مکانیکی داربست با پلیمرهای مصنوعی و طبیعی کامپوزیت می‌کنند [۱، ۲].

یکی دیگر از موادی که اخیراً در مهندسی بافت کاربرد دارد، نانولوله‌های کربنی است. تعداد مطالعات انجام شده در سال‌های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ نشان می‌دهد که بکارگیری این ماده در حوزه پزشکی تقریباً به دو برابر رسیده است. تولید نانولوله‌های کربنی معمولاً از طریق رسوب شیمیایی بخار انجام می‌شود. با توجه به اینکه رشد نانولوله‌ها بوسیله کاتالیست‌های فلزی صورت می‌گیرد در نتیجه ممکن است سمیت سلولی ایجاد کند به‌همین دلیل برای کاربردهای پزشکی نیاز به تصفیه با استفاده از اسید قوی دارند. نانولوله‌های کربنی خواص مکانیکی و الکتریکی مطلوبی دارند اما از نظر واکنش‌پذیری سطح و ترشوندگی ضعیف‌اند. با تصفیه آنها و قرارگیری گروه‌های عاملی مانند کربوکسیل می‌توان این محدودیت را برطرف نمود [۳].

مواد برپایه گرافن بصورت گسترده در زمینه‌های پزشکی مانند استخوان، عصب و غضروف استفاده می‌شود. حضور نانوذرات گرافنی در داربست‌های مهندسی بافت باعث واکنش آن با انواع زیست مولکول‌ها همچون آنزیم‌ها شده و به دلیل خواص مکانیکی بالا و هدایت الکتریکی منجر به تسریع روند ترمیم و بازسازی آسیب دیده می‌گردد [۴].

همچنین از شیشه‌ها و شیشه-سرامیک‌ها نیز در ساخت داربست استفاده می‌کنند. شیشه‌ها جامد آمورفی هستند که از سرد نمودن حالت مایع به وجود می‌آیند. ساختمان اتمی شیشه‌ها دارای نظم و تناوب ساختار بلوری بلند برد نمی‌باشند. شیشه‌های زیستی در مقیاس نانو با ترکیب شیمیایی حاوی سیلیس، سدیم اکسید، کلسیم اکسید و دی فسفر پنتاکسید به علت مساحت سطحی بالای آن،

* Chemical Vapor Deposition

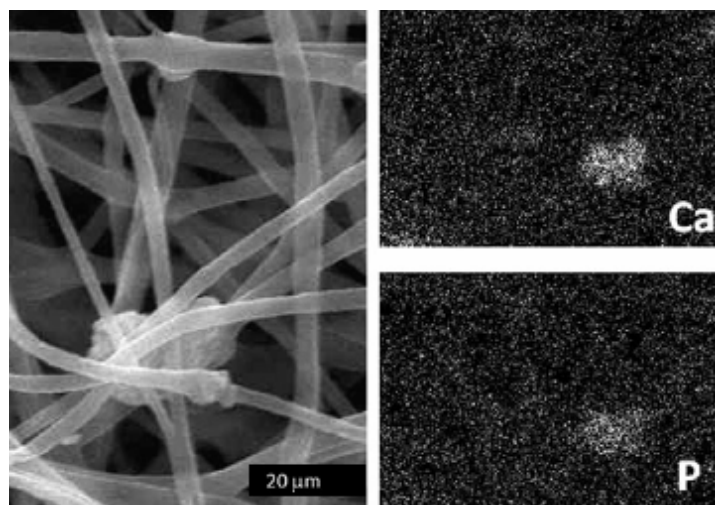
فعالیت زیستی را بهبود می‌بخشند. از این نانوذرات در زمینه ترمیم بافت غضروف استفاده می‌شود [۵].

افزودن شیشه‌های فعال زیستی به پلیمرها، زیست فعالی، جذب پروتئین و چسبندگی سلول، زیست پذیری و استحکام مکانیکی داربست را بهبود می‌بخشد و در مقابل با کاهش نرخ متورم شدن، سبب قوام پلیمر شده و مهاجرت سلولی را در پی خواهد داشت [۶]. حضور مواد سرامیکی از جمله شیشه‌های فعال زیستی در بدن از طریق تشکیل لایه کلسیم فسفاتی در سطح موجب بهبود زیست سازگاری و کنترل تخریب پذیری داربست در محیط بدن نیز می‌شود [۷]. مهمترین محدودیت این نوع از سرامیک‌ها، قدرت انحلال پذیری بالا، تردی و شکننده بودن آن است. امروزه به منظور افزایش کارایی و خواص شیشه‌های فعال، عناصر مختلفی همچون نقره، منیزیم، استرانسیوم، زیرکونیا، روی، پتاسیم، فلوراید و آلومینیوم را به آن اضافه می‌کنند. بطورمثال افزودن نقره، به دلیل خواص آنتی باکتریالی، از عفونت ایمپلنت و جراحی مجدد آن جلوگیری می‌کند [۸].

۲- ارزیابی نانوالیاف الکتروریسی شده سرامیک/پلیمر

بیانکو^۱ و همکارانش در سال ۲۰۰۹ نانوالیاف الکتروریسی شده از پلی کاپرولاکتون (PCL) و هیدروکسی آپاتیت ساختند. در این پژوهش ابتدا غلظت‌های مشخصی از نانوذرات سرامیکی بین ۲ تا ۵۵ درصد وزنی و ماده پلیمری را در حلالی مناسب پراکنده کردند. پس از همزدن و انحلال کامل، محلول نهایی تحت الکتروریسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که حضور ماده سرامیکی موجب افزایش گرانیوی و هدایت الکتریکی نمونه‌ها می‌گردد اما در نمونه ۴ و ۶ درصد وزنی، ویسکوزیته کاهش یافت که به دلیل توزیع همگن نانوذرات می‌باشد.

تصاویر SEM نشان داد که افزودن ماده سرامیکی منجر به تشکیل کلوخه در داربست می‌گردد. همچنین تصویر طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDS) از منطقه کلوخه‌ها بیانگر تجمع عناصر کلسیم و فسفر بود. در داربست حاوی ۲ درصد سرامیک الیاف یکنواخت و فاقد گره مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نمونه ۶ درصد وزنی و نقشه EDS [۹].

آنالیز خواص مکانیکی از طریق تست کشش نشان می‌دهد در نمونه‌های حاوی ۲، ۴ و ۶ درصد استحکام داربست تغییر چشمگیری نداشته است اما با افزایش بیشتر جزء دوم، ساختار ناهمگن و غیر یکنواخت الیاف کاهش پیدا کرد [۹].

هلمس^۲ و همکاران در سال ۲۰۱۴ سازه الکتروریسی شده به همراه نانومواد کربنی ساختند. گرافن و نانولوله کربنی تک دیواره (SWCNTs) به روش قوس الکتریکی تهیه شدند. سه گروه از داربست برای ارزیابی‌های مختلف شامل گروه کنترل (PCL) که در حلال کلروفرم حل شد، گروه‌های حاوی گرافن/ نانولوله و گرافن/ نانولوله و پلی ال لایزین ساخته شد. بعلاوه آب‌گریزی بالای PCL و بهبود استحکام مکانیکی، به آن نانومواد کربنی و پلی ال لایزین اضافه شد. مورفولوژی الیاف بیانگر آنست که داربست‌ها

¹ Bianco
² Holmes

دارای الیافی با توزیع قطری همگن و بدون گره می‌باشد. بطور کلی بررسی خواص مکانیکی و ارزیابی‌های سلولی نشان داد که داربست حاوی ۱٪ گرافن/ نانولوله در مقایسه با سایر نمونه‌ها مدول یانگ، چسبندگی و تکثیر سلولی بالاتر و مناسب‌تری داشت. در این تحقیق از سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان انسان استفاده شد [۱۰].

سونگ^۱ و همکاران در سال ۲۰۱۵ نانو الیاف الکتروریسی از PCL و گرافن اکسید را برای کاربرد مهندسی بافت ساختند. سوسپانسیون PCL و اکسید گرافن با غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی در حلالی مشخص تهیه کردند سپس محلول‌ها برای الکتروریسی در درون سرنگ منتقل شدند. توپوگرافی الیاف به کمک میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) بررسی شد. بطوری که با افزایش مقدار گرافن اکسید به داربست قطر الیاف به علت هدایت الکتریکی بالای آن کاهش یافت. اما آنالیز تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی بیانگر آن است که الیاف در نمونه‌های حاوی ۰/۵ و ۱ درصد وزنی یکپارچگی خود را از دست داده‌اند.

آزمون آنالیز وزنی حرارتی (TGA) به منظور میزان پایداری حرارتی داربست‌های کامپوزیتی انجام شد (شکل ۲). افزایش ثبات حرارتی در اثر ایجاد پیوندی جدید حین پروسه ساخت الیاف ممکن است رخ دهد. تمامی نمونه‌ها تا دمای ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد بدون تغییر در وزن خود بودند. بطور کلی غشاها با مقادیر بالای اکسید نرخ تخریب ساختاری کمتری نسبت به درصد‌های پایین داشتند [۱۱].

آنالیز خواص مکانیکی از طریق تست کشش نشان می‌دهد در نمونه‌های حاوی ۲، ۴ و ۶ درصد استحکام داربست تغییر چشمگیری نداشته است اما با افزایش بیشتر جزء دوم، ساختار ناهمگن و غیر یکنواخت الیاف کاهش پیدا کرد [۹].

هلمس^۲ و همکاران در سال ۲۰۱۴ سازه الکتروریسی شده به همراه نانومواد کربنی ساختند. گرافن و نانولوله کربنی تک دیواره (SWCNTs) به روش قوس الکتریکی تهیه شدند. سه گروه از داربست برای ارزیابی‌های مختلف شامل گروه کنترل (PCL) که در حلال کلروفرم حل شد، گروه‌های حاوی گرافن/ نانولوله و گرافن/ نانولوله و پلی ال لایزین ساخته شد. بعلاوه آب‌گریزی بالای PCL و بهبود استحکام مکانیکی، به آن نانومواد کربنی و پلی ال لایزین اضافه شد. مورفولوژی الیاف بیانگر آنست که داربست‌ها دارای الیافی با توزیع قطری همگن و بدون گره می‌باشد. بطور کلی بررسی خواص مکانیکی و ارزیابی‌های سلولی نشان داد که داربست حاوی ۱٪ گرافن/ نانولوله در مقایسه با سایر نمونه‌ها مدول یانگ، چسبندگی و تکثیر سلولی بالاتر و مناسب‌تری داشت. در این تحقیق از سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان انسان استفاده شد [۱۰].

سونگ^۳ و همکاران در سال ۲۰۱۵ نانو الیاف الکتروریسی از PCL و گرافن اکسید را برای کاربرد مهندسی بافت ساختند. سوسپانسیون PCL و اکسید گرافن با غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی در حلالی مشخص تهیه کردند سپس محلول‌ها برای الکتروریسی در درون سرنگ منتقل شدند. توپوگرافی الیاف به کمک میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) بررسی شد. بطوری که با افزایش مقدار گرافن اکسید به داربست قطر الیاف به علت هدایت الکتریکی بالای آن کاهش یافت. اما آنالیز تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی بیانگر آن است که الیاف در نمونه‌های حاوی ۰/۵ و ۱ درصد وزنی یکپارچگی خود را از دست داده‌اند.

آزمون آنالیز وزنی حرارتی (TGA) به منظور میزان پایداری حرارتی داربست‌های کامپوزیتی انجام شد (شکل ۲). افزایش ثبات حرارتی در اثر ایجاد پیوندی جدید حین پروسه ساخت الیاف ممکن است رخ دهد. تمامی نمونه‌ها تا دمای ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد بدون تغییر در وزن خود بودند. بطور کلی غشاها با مقادیر بالای اکسید نرخ تخریب ساختاری کمتری نسبت به درصد‌های پایین داشتند [۱۱].

شالومن^۴ و همکاران در سال ۲۰۱۳ تاثیر افزودن هیدروکسی آپاتیت و شیشه‌های زیستی بر نانوالیاف کیتوسان/PCL را ارزیابی کردند. در این پژوهش از هیدروکسی آپاتیت با ترکیب شیمیایی $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ ، شیشه زیستی حاوی CaO ، SiO_2 و Na_2O و حلال‌های دوگانه شامل فرمیک اسید و استون به دلیل رسانندگی بالا و تولید الیافی یکنواخت و بدون گره استفاده شدند.

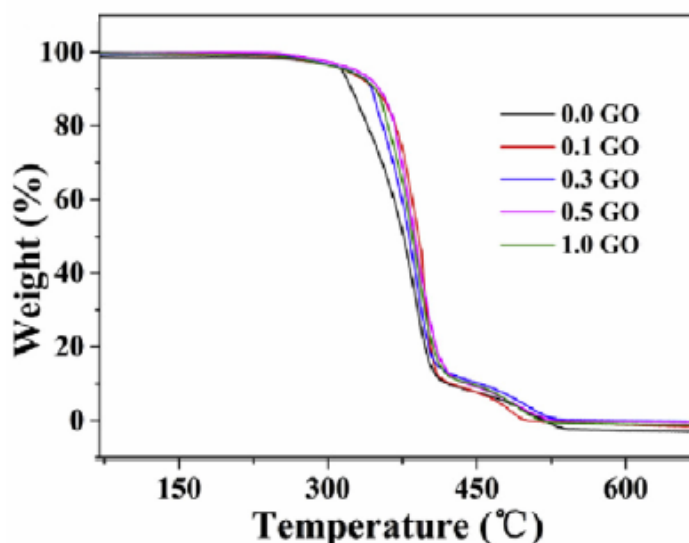
¹ Song

² Holmes

³ Song

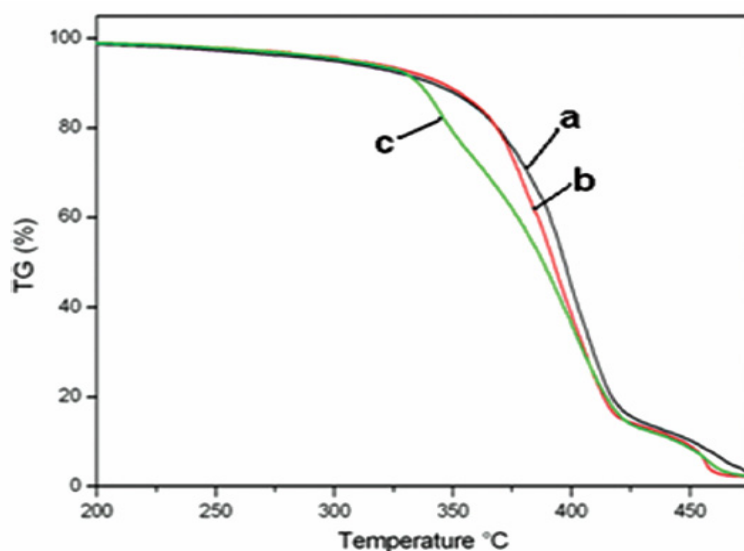
⁴ Shalumon

غلظت‌های مختلفی شامل ۱/۵ و ۳٪ وزنی از سرامیک‌ها به محلول پلیمری اضافه شد. افزودن نانوذرات سرامیکی همچون هیدروکسی آپاتیت و شیشه‌های زیستی با توجه به عایق بودنشان، هدایت محلول را کاهش می‌دهند در نتیجه ایافی با قطر بزرگتر خواهیم داشت.



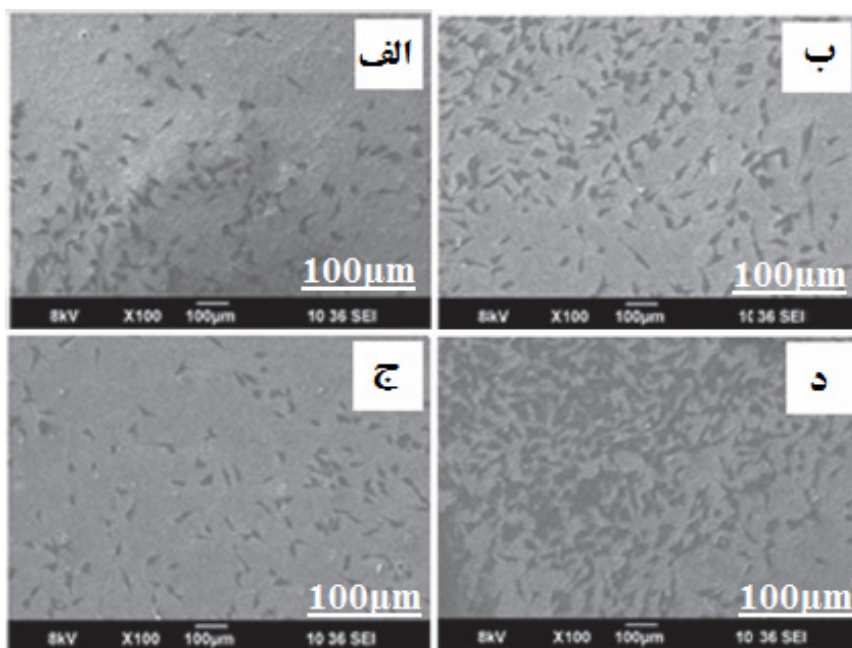
شکل ۲- پروفایل TGA [۱۱].

آنالیز حرارتی با استفاده از روش ترموگراویمتری (TG) اندازه‌گیری شد. افزایش نانوذرات شیشه‌های زیستی موجب کاهش دمای تجزیه می‌گردد بدین معنی که در دمای پایین‌تری دچار تخریب و بی‌ثباتی می‌شود. منحنی TG در شکل (۳) نشان می‌دهد که نمونه‌های کنترل و ۱/۵ درصد وزنی تقریباً مشابه همدیگر به‌علت همگن بودن نانوذرات در داربست و متفاوت با نمونه ۳ درصد وزنی است.



شکل ۳- دیاگرام TG نمونه‌های الف) PCL/CS (ب) PCB1/5 (ج) PCB3 [۱۲].

بر اساس شکل (۴) ارزیابی‌های سلولی نشان می‌دهد که داربست PCL/کیتوسان حاوی ۳٪ وزنی شیشه زیستی تکثیر سلولی مناسب‌تری رخ داده است که برای مهندسی بافت سخت می‌توان آن را بکار برد [۱۲].

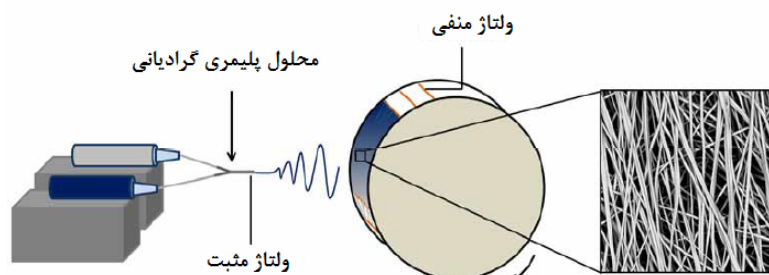


شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از داربست‌های حاوی سلول‌های لانه گزین شده بعد ۹۶ ساعت (الف) PCH1/5 (ب) PCH3 (ج) PCB1/5 (د) PCB3 [۱۲].

۳- مروری بر پیشرفت‌های اخیر در حوزه الکتروریسی

۳-۱- الکتروریسی گرادیدانی

در سال‌های اخیر بزرگترین چالش پیشروی مهندسی بافت، ترمیم بافت بومی با یک داربست سنتزی بوده است. به منظور تقلید زیستی از ساختارهای ناهمگن بافت باید خواص داربست‌ها را متناسب با عملکرد بافت طراحی کرد. در نتیجه الکتروریسی گرادیدانی با هدف شبیه‌سازی بیشتر خواص داربست و بافت هدف روی کار آمد. عمدتاً از روش اختلاط محلول پلیمری برای تهیه کامپوزیت‌های گرادیدانی استفاده می‌شود. طبق شکل (۵) این روش از دو پمپ سرنگ مجزا تشکیل شده که سوزن‌ها به هم متصل‌اند بطوری‌که تنها یک محلول مخلوط از سوزن خارج می‌شود. با اعمال نرخ تغذیه‌های متفاوت می‌توان داربست گرادیدانی بدون تغییر در ضخامت داربست تهیه نمود [۱۳].



شکل ۵- الکتروریسی گرادیدانی [۱۳].

داربست‌های گرادیدانی جهت مهندسی بافت غضروف-استخوان باید دارای ویژگی‌های زیر باشند:

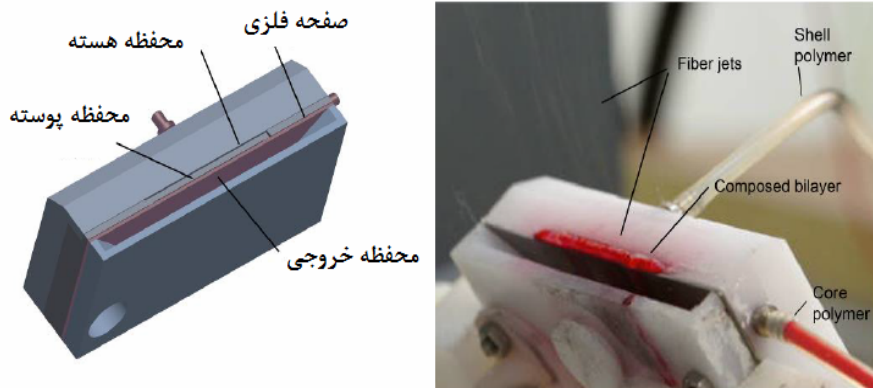
۱- تخلخل بالا با اندازه حفرات حداقل ۱۰۰ میکرومتر برای تعاملات سلولی و رشد بافت کلسینه شده و تخلخل کمتر برای بافت نرم.

۲- خواص مکانیکی: مدول یانگ داربست باید در محدوده بافت بومی باشد (بطور مثال برای بافت استخوان ران ۱۳۹۳ MPa و بافت غضروف حدود ۱۲۲ MPa)

۳- تخریب پذیری: جایگزین شدن بافت جدید با تخریب کاشتنی [۱۴].

۳-۲- الکتروریسی بدون سوزن

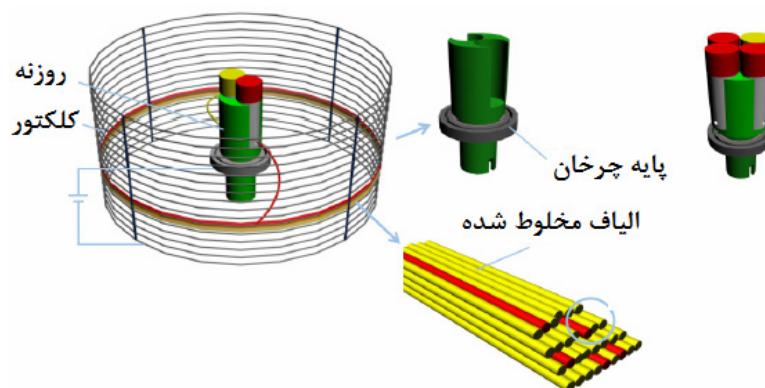
بکارگیری تکنیک الکتروریسی هسته-پوسته روشی مناسب برای تولید کامپوزیت‌های امتزاج ناپذیر است اما این روش با محدودیتی مثل نرخ تولید کم مواجه می‌باشد. اگرچه استفاده از سوزن‌های بیشتر برای بهبود بهره‌وری این روش می‌تواند موثر باشد ولی افزایش سوزن موجب تغییر در میدان الکتریکی و مورفولوژی الیاف می‌گردد. بنابراین تکنولوژی الکتروریسی بدون سوزن روی کار آمد. الکتروریسی بدون سوزن از ۳ محفظه تشکیل شده است. محفظه اول و دوم به ترتیب برای قرارگیری محلول پلیمری پوسته و هسته و محفظه سوم هم به منظور خروج پلیمر می‌باشد (شکل ۶) [۱۵].



شکل ۶- الکتروریسی بدون سوزن [۱۵].

۳-۳- الکتروریسی گریز از مرکز

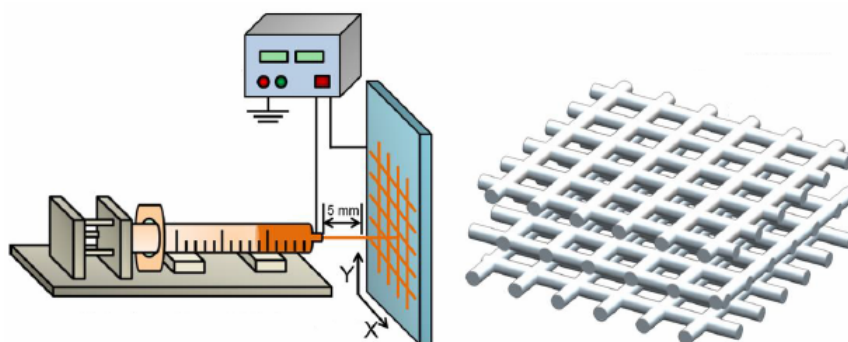
در این روش هم از نیروی گریز از مرکز و نیروی الکتریکی برای تهیه الیاف منظم و آرایش‌یافته استفاده می‌شود. همانطور که در شکل (۷) مشاهده می‌کنید اجزای دستگاه الکتروریسی گریز از مرکز شامل صفحه جمع‌کننده استوانه‌ای شکل رسانا از جنس آهن، پایه چرخان و روزنه (قطر ۰/۴-۰/۶ میلی‌متر) در قسمت زیرین محفظه تشکیل شده است. ولتاژ اعمالی، سرعت چرخش و اندازه روزنه بر روی مورفولوژی الیاف تاثیر می‌گذارند. با توجه به نرخ پایین تولید الیاف (۱۲۰ gr/hr) استفاده از محفظه‌های بیشتری برای تزریق محلول پلیمری توسعه یافته‌اند [۱۶].



شکل ۷- الکتروریسی گریز از مرکز [۱۶].

۳-۴- الکتروریسی میدان نزدیک

ابتدا محلول پلیمری در حلال مناسب حل شده سپس به درون سرنگ بارگذاری می‌شود. براساس شکل (۸) فاصله نازل و صفحه جمع‌کننده حدود ۵ میلی‌متر در نظر گرفته شده است. پس از ایجاد اختلاف پتانسیل و نرخ جریان مناسب، الیاف روی کلکتور رسوب می‌کند. حرکت کلکتور در محورهای افقی و عمودی بر طبق یک برنامه کامپیوتری از پیش تعریف شده می‌باشد. اندازه منافذ در داربست را می‌توان به کمک نرم افزار افزایش داد و در نتیجه با توجه به قطر منفذ مورد نیاز شرایط بهینه‌سازی کرد. این روش برای بهبود رفتارهای سلولی همچون رشد و تکثیر سلولی کاربرد دارد [۱۷].

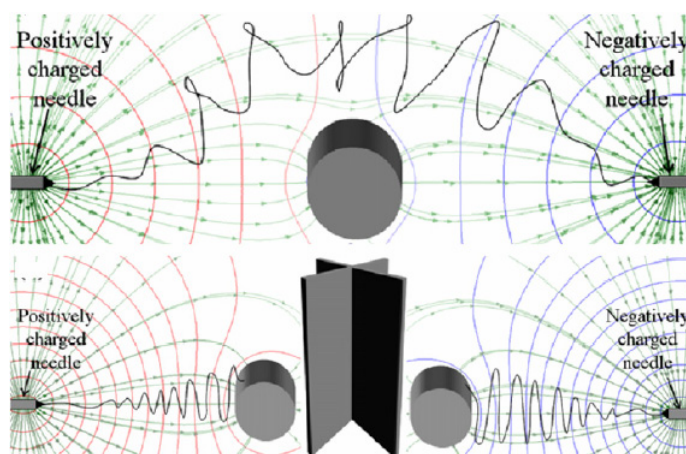


شکل ۸- الکتروریسی میدان نزدیک [۱۷].

۳-۵ الکتروریسی با استفاده همزمان از ولتاژ مثبت و منفی

یکی از مشکلات روش‌های الکتروریسی مرسوم محدودیت در ضخامت داربست است. در واقع نانوالیاف که به وسیله نیروی الکترواستاتیک شارژ شده، شارژ باقی مانده در الیاف مانع از شکل‌گیری داربست‌هایی با ضخامت بالاتر می‌شود. جهت برطرف کردن این مشکل، استفاده از ولتاژ مثبت و منفی مطرح شد. از طرفی دیگر امکان اتصال الیاف در طول پرواز و تجمع یافتگی آنها نیز ممکن است رخ دهد.

در این دستگاه دو پمپ سرنگ و صفحه جمع‌کننده چرخان تعبیه شده و منبع ولتاژهای مثبت و منفی به نوک سوزن‌ها متصل است (شکل ۹). حرکت کلکتور در جهات عقربه ساعت و مخالف آن از به هم چسبندگی الیاف جلوگیری می‌کند [۱۸].



شکل ۹- پروفایل میدان الکتریکی ایجاد شده بوسیله ولتاژهای مثبت و منفی در صفحات جمع‌کننده مختلف [۱۸].

۴- نتیجه‌گیری

داربست‌های نانولیفی کامپوزیتی سرامیک-پلیمر بطور گسترده در حوزه مهندسی بافت کاربرد دارد. عمدتاً از سرامیک‌هایی همچون شیشه، شیشه سرامیک، اکسید گرافن و دیگر مواد استفاده می‌شود. از طرفی دیگر، تکنیک الکتروریسی برای تهیه الیافی با ضخامت و بازدهی بالا گسترش یافته‌اند که از آن می‌توان به الکتروریسی گریز از مرکز، ولتاژ مثبت و منفی، میدان نزدیک و گرادیانی اشاره نمود که بکارگیری هر کدام از روش‌ها بسته به کاربرد مورد نظر متفاوت می‌باشد.

مراجع

- [1] Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Sakthi Kumar D. "Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review". International Journal of Polymer Science. Vol. 2011, pp. 1-19, 2011.
- [2] Rahaman M.N, Day D.E, Sonny Bal B, Fu Q, Jung S.B, Bonewald L.F, Tomsia A.P. "Bioactive glass in tissue engineering". Acta Biomaterialia. Vol. 7, pp. 2355-2373, 2011.
- [3] Harrison B.S, Atala A. "Carbon nanotube applications for tissue engineering". Biomaterials. Vol. 28, pp. 344-353, 2007.

- [4] Shin SR, Li Y.C, Jang H.L, Khoshakhlagh P, Akbari M, Nasajpour A, Shrike Zhang Y, Tamayol A, Khademhossein A. "Graphene-based materials for tissue engineering". *Advanced Drug Delivery Reviews*. Vol. 105(B), pp. 255-274, 2016.
- [5] Boccaccini A.R, Erol M, Stark W.J, Mohn D, Hong Z, Mano J.F. "Polymer/bioactive glass nanocomposites for biomedical applications. A Review". *Composites Science and Technology*. Vol. 70, pp. 1764-1776, 2010.
- [6] [6] Khoshakhlagh P, Rabiee S.M, Kiaee G, Heidari P, Miri A.K, Moradi R, Moztafzadeh F, Ravarian R. "Development and Characterization of a Bioglass/chitosan Composite as an Injectable Bone Substitute". *Carbohydrate Polymers*. Vol. 157, pp. 1261-1271, 2017.
- [7] Nabian N, Jahanshahi M, Rabiee S.M. "Synthesis of nano-bioactive glass-ceramic powders and its in vitro bioactivity study in bovine serum albumin protein". *Journal of Molecular Structure*. Vol. 998, pp. 37-41, 2011.
- [8] Rabiee S.M, Nazparvar N, Azizian M, Vashae D, Tayebi L. "Effect of ion substitution on Properties of bioactive glasses: A review". *Ceramics International*. Vol. 41, pp. 7241-7251, 2015.
- [9] Bianco A, Federico E.D, Moscatelli I, Camaioni A, Armentano I, Campagnolo L, Dottori M, Kenny J.M, Siracusa G, Gusmano G. "Electrospun poly(ϵ -caprolactone)/Ca-deficient hydroxyapatite nanohybrids: Microstructure, mechanical properties and cell response by murine embryonic stem cells". *Materials Science and Engineering C*. Vol 29, pp. 2063-2071, 2009.
- [10] Holmes B, Fang X, Zarate A, Keidar M, Zhang L.G. "Enhanced Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Chondrogenic Differentiation in Electrospun Constructs with Carbon Nanomaterials". *Carbon*. Vol. 97, pp. 1-13, 2016.
- [11] Song J, Gao H, Zhu G, Cao X, Shi X, Wang Y. "The preparation and characterization of polycaprolactone/graphene oxide biocomposite nanofiber scaffolds and their application for directing cell behaviors". *Carbon*. Vol. 95, pp. 1039-1050, 2015.
- [12] Shalumon K. T, Sowmya S, Sathish D, Chennazhi K. P, Nair S.V, Jayakumar R. "Effect of Incorporation of Nanoscale Bioactive Glass and Hydroxyapatite in PCL/Chitosan Nanofibers for Bone and Periodontal Tissue Engineering". *Journal of Biomedical Nanotechnology*. Vol. 9, pp. 430-440, 2013.
- [13] Kishan A.P, Robbins A.B, Mohiuddin S.F, Jiang M, Moreno M.R, Cosgriff-Hernandez E.M. "Fabrication of macromolecular gradients in aligned fiber scaffolds using a combination of in-line blending and air-gap electrospinning". *Acta Biomaterialia*. Vol. 56, pp. 118-128, 2017.
- [14] Seidi A, Ramalingam M, Elloumi-Hannachi I, Ostrovidov S, Khademhosseini Ali. "Gradient biomaterials for soft-to-hard interface tissue engineering". *Acta Biomaterialia*. Vol. 7, pp. 1441-1451, 2011.
- [15] Vysloužilová L, Buzgo M, Pokorný P, Chvojka J, Míčková A, Rampichová M, Kula J, Pejchar K, Bílek M, Lukáš D, Amler E. "Needleless coaxial electrospinning: a novel approach to mass production of coaxial nanofibers". *International Journal of Pharmaceutics*. Vol. 516(1-2), pp. 293-300, 2017.
- [16] Wang L, Ahmad Z, Huang J, Li J.S, Chang M.W. Multi-Compartment Centrifugal Electrospinning Based Composite Fibers. *Chemical Engineering Journal*. Vol. 330, pp. 541-549, 2017.
- [17] Feng-Li H, Da-Wei L, Jin H, Yang-Yang L, Fiaz A, Ya-Li L, Xudong D, Ya-Jing Y, Da-Chuan Y. "A novel layer-structured scaffold with large pore sizes suitable for 3D cell culture prepared by near-field electrospinning". *Materials Science and Engineering: C*, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.12.016>.
- [18] Tong H.W, Wang M. "A novel technique for the fabrication of 3D nanofibrous scaffolds using simultaneous positive voltage electrospinning and negative voltage electrospinning". *Materials Letters*, Vol. 94, pp. 116-120, 2013.