

03-016

## STUDY OF ANISOTROPY IN THE DEVELOPMENT OF ELECTROSPUN NANOFIBROUS BIOMATERIALS

*Pérez-Puyana, Víctor*<sup>(1)</sup>; *Jiménez-Rosado, Mercedes*<sup>(1)</sup>; *Rubio-Valle, José Fernando*<sup>(1)</sup>; *Guerrero, Antonio*<sup>(1)</sup>; *Romero, Alberto*<sup>(1)</sup>  
<sup>(1)</sup> Universidad de Sevilla

The possibility of creating nanofibers allows their application in several research areas (filtration, biotechnology or catalysis). However, the main advances about nanofibers are related to the fabrication of biomaterials (scaffolds) for regenerative medicine. Among the possible techniques to obtain nanofibers, the electrospinning technique stands out, which allows the formation of nanofibrous membranes from polymer solutions obtained from combinations of synthetic and/or natural polymers. The industrial relevance of this technique lies in the high reproducibility for specific processing conditions (flow, voltage and/or humidity) during the formation of the nanofibers. Among these conditions, rotational collector speed stands out, as it allows the orientation of the fibers and, therefore, inducing a significant change in the properties of the biomaterials obtained according to the direction (anisotropy). Thus, the objective of this work was to evaluate the influence of the orientation of the nanofibers on the properties of biomaterials obtained by electrospinning. To this end, a morphological and functional characterization of the obtained structures was performed. The results revealed that a greater orientation of the fibers caused significant variations in the properties of the biomaterials depending on the orientation.

*Keywords: nanofibers; electrospinning; anisotropy; biomaterials; functional properties*

## ESTUDIO DE LA ANISOTROPÍA EN EL DESARROLLO DE BIOMATERIALES DE NANOFIBRAS OBTENIDOS POR ELECTROHILADO

La posibilidad de crear nanofibras permite su aplicación en numerosas áreas de investigación (filtración, biotecnología o catálisis). Sin embargo, los principales avances acerca de las nanofibras están relacionado con la fabricación de biomateriales (andamios) para medicina regenerativa. Entre las posibles técnicas para obtener nanofibras, destaca la técnica de electrohilado, que permite la formación de membranas de nanofibras a partir de disoluciones poliméricas elaboradas a partir de combinaciones de polímeros sintéticos y/o naturales. La relevancia industrial de esta técnica radica en la alta reproducibilidad para unas condiciones de procesado específicas (caudal, voltaje y/o humedad) durante la formación de nanofibras. Entre ellas, destaca la rotación del colector, ya que permite promocionar la orientación de las fibras y, así, inducir un cambio significativo en las propiedades de los biomateriales fabricados en función de la dirección de aplicación (anisotropía). Por tanto, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar la influencia de la orientación fibrilar en las propiedades de los andamios obtenidos por electrohilado. Para ello, se realizó una caracterización morfológica y funcional de las estructuras obtenidas. Los resultados revelaron que una mayor orientación de las fibras provoca variaciones significativas en las propiedades de los biomateriales en función de la orientación de la aplicación.

Palabras clave: nanofibras; electrohilado; anisotropía; biomateriales; propiedades funcionales

Correspondencia: Víctor Manuel Pérez Puyana [vperez11@us.es](mailto:vperez11@us.es)



©2020 by the authors. Licensee AEIPRO, Spain. This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## 1. Introducción

La estructura y composición de un material puede modificar sus propiedades y determinar así sus aplicaciones. La heterogeneidad de su estructura afecta al comportamiento ya que puede dar lugar a la formación de pequeñas deformaciones que modifican el comportamiento del material en términos de propiedades eléctricas, magnéticas o incluso mecánicas.

Los diferentes comportamientos de materiales al evaluar el mismo parámetro bajo diferentes direcciones darán como resultado diferentes tipos de materiales considerando su anisotropía. Los materiales isotrópicos muestran valores idénticos de una propiedad en todas las direcciones, mientras que las propiedades de los materiales anisotrópicos cambian según la dirección de medición. Entre estos extremos se encuentran los materiales ortotrópicos, cuyas propiedades difieren a lo largo de los tres ejes ortogonales.

Este efecto permite utilizar este tipo de materiales en numerosas aplicaciones, como metales ferromagnéticos ultrafinos, neumáticos, dispositivos de pantalla táctil e incluso andamios para ingeniería tisular (Dunn et al., 2008; Chortos et al., 2016; Suzuki y Miwa, 2019). Sin embargo, también puede ser una desventaja, ya que, a veces, no hay ningún efecto en una dirección específica, sino en una combinación de direcciones, lo que hace que la respuesta del material sea diferente. En este sentido, es esencial caracterizar los sistemas en diferentes direcciones, evaluando su comportamiento.

El campo de la medicina regenerativa, y específicamente la ingeniería de tejidos, es un campo en el que este tipo de caracterización es muy recomendable cuando se usan andamios. Los andamios son estructuras que proporcionan una plataforma fisicoquímica y biológica adecuada para que las células crezcan, proliferen y se diferencien (O'Brien, 2011). Estos andamios pueden procesarse mediante diferentes técnicas y composiciones, a menudo mediante combinaciones de diferentes componentes que se distribuyen de manera no homogénea. Esto hace que sus propiedades sean diferentes en función de la región y dirección evaluadas, mostrando, por lo tanto, similitudes con los materiales anisotrópicos.

Las propiedades que pueden tener estos materiales están estrechamente ligadas con su estructura interna, porosidad, interconectividad y distribución del tamaño de las fibras que pueden ser manipuladas según la forma de procesamiento y de las materias primas usadas, tanto en el tipo como en su proporción. Aunque las propiedades de este tipo de materiales se han investigado ampliamente en la literatura (Jose et al., 2009; Kai et al., 2011), hasta ahora se ha prestado poca atención al carácter anisotrópico de estas estructuras y su respuesta a la aplicación de fuerzas en diferentes direcciones (anisotropía).

De ahí que nuestra hipótesis es que las propiedades de los andamios obtenidos son diferentes dependiendo de la dirección de medición, considerando que la alineación de las fibras influye en la variación de las propiedades. Este trabajo es parte de una línea de investigación del grupo de investigación "Tecnología y Diseño de Productos Multicomponentes" (TEP-229) que consiste en el desarrollo de biomateriales mediante diferentes técnicas y materias primas (sobre todo poliméricas), evaluando posibles sinergias entre diferentes materias primas utilizadas, teniendo especial interés en el uso de polímeros biocompatibles.

## 1.1 Técnica de electrohilado

Entre las diferentes técnicas de fabricación de materiales, cabe destacar la técnica de electrohilado, ya que permite fabricar materiales nanofibrosos con una porosidad adecuada y un área específica alta (Frenot y Chronakis, 2003). Esta técnica consiste en la deformación de una gota de una disolución polimérica para formar un entramado polimérico. Dicho entramado se forma debido a un campo de voltaje eléctrico, que produce repulsiones electrostáticas entre superficies cargadas (Doshi y Reneker, 1995). La estructura y las propiedades de los andamios producidos dependen de las condiciones de procesamiento seleccionadas en función de los parámetros ambientales como la temperatura y la humedad, así como de los parámetros de trabajo como el voltaje, la distancia del colector de agujas, el caudal o la velocidad de rotación del colector. Esto último influye en la alineación de las fibras, lo que permite obtener estructuras con diferentes alineaciones en función de la velocidad seleccionada.

Entre las materias primas destacan tanto polímeros sintéticos como biopolímeros, así como aditivos que varían las propiedades físicas y mecánicas del andamio de forma distinta. Como polímeros sintéticos, es de especial interés la policaprolactona (PCL). Se trata de un polímero que destaca por su biocompatibilidad, biodegradabilidad, propiedades mecánicas adecuadas y capacidad de procesamiento (Gümüşderelioğlu et al., 2011). PCL con un peso molecular promedio de 45,000 u 80,000 se ha utilizado ampliamente para estudios de electrohilado (Dulnik et al., 2016; Fereshteh et al., 2016).

Por su parte, como polímero natural podemos destacar el colágeno y la gelatina. Ambos polímeros destacan por su alta compatibilidad, no inmunogenicidad y sus propiedades funcionales favorables, que los hacen muy útiles en aplicaciones de ingeniería de tejidos (Aldana y Abraham, 2017). La combinación de estos polímeros naturales con polímeros sintéticos produce sistemas más hidrófilos mejorando la adhesión y, por ende, el crecimiento celular. En esta línea, tanto el colágeno como la gelatina se han utilizado con otros polímeros como PLA o PCL (Gautam et al., 2013) para mejorar sus propiedades biológicas para aplicaciones de regeneración ósea o cardíaca. En este sentido, por ejemplo, la gelatina se ha combinado con PVA para producir sistemas con un ángulo de contacto más bajo y, por lo tanto, más hidrófilo (Perez-Puyana et al., 2018).

## 2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es el estudio y evaluación de andamios producidos por electrohilado, evaluando la influencia de la combinación de un polímero sintético (policaprolactona, PCL) con un polímero natural (gelatina) en las propiedades mecánicas y morfológicas de los andamios.

Para conseguir este objetivo global, se plantearon dos objetivos específicos:

- Caracterización de los andamios producidos mediante la evaluación del ángulo de contacto, microscopía de ángulo de contacto (SEM) y ensayos mecánicos en dos direcciones diferentes: paralelas y perpendiculares a la formación de fibras para analizar la anisotropía de las estructuras.
- Comparar los diferentes sistemas procesados en función de dos direcciones de medida: paralela y perpendicular (a la formación de fibras).

### 3. Metodología

#### 3.1 Materiales

Para este estudio, la gelatina utilizada fue gelatina de pescado tipo B, suministrada por Henan Boom Gelatin Co. Ltd (China). Presentaba un contenido proteico de un 95% en peso. La poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL, con un peso molecular de 45.000 g/mol) y 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) fueron suministradas por Sigma Aldrich (Alemania).

#### 3.2 Preparación de andamios

Los andamios se prepararon con una combinación entre policaprolactona y gelatina para evaluar su influencia en las propiedades de los andamios. El método utilizado para la preparación de estos andamios fue por electrohilado, que consta de dos etapas: preparación de la disolución polimérica y electrohilado de dichas disoluciones. Los diferentes sistemas procesados fueron preparados durante el año 2019 en Holanda.

##### 3.2.1 Preparación de la disolución polimérica

En primer lugar, se preparan las disoluciones de PCL (16 %p/v) y gelatina (4 %p/v) en función de estudios previos. Para ello, se mezclaron ambos polímeros a temperatura ambiente mediante agitación durante aproximadamente 24 h con un agitador magnético utilizando 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) como disolvente.

##### 3.2.2 Proceso de Electrohilado

Una vez que se prepararon las disoluciones, el proceso de electrohilado se realizó en modo vertical utilizando un equipo Fluidnatek LE-100 (Bioinicia). El estudio de la influencia del alineamiento en las propiedades de los andamios de PCL/gelatina se realizó mediante la producción de dos sistemas a dos velocidades de rotación diferentes (0 y 600 rpm) para obtener membranas (andamios) con diferentes alineamientos (ordenamiento aleatorio y ordenamiento alineado, respectivamente).

Las condiciones de procesamiento utilizadas fueron: 14 kV de voltaje, con una velocidad de flujo de 0,4 mL/h y una distancia aguja-colector de 14 cm. La temperatura y la humedad se ajustaron a 25 °C y 40%, respectivamente.

##### 3.2.3 Sistemas estudiados

Los diferentes sistemas analizados aparecen resumidos en la Tabla 1:

**Tabla 1: Sistemas estudiados**

Sistema	Referencia
PCL+Gelatina 0 rpm	Aleatorio
PCL+Gelatina 600 rpm	Alineado

### **3.3 Caracterización de andamios**

Los diferentes sistemas fueron caracterizados durante el año 2019 en España. La caracterización llevada a cabo consistió en una evaluación funcional, morfológica y mecánica de las estructuras.

#### **3.3.1 Evaluación funcional**

##### Medidas de ángulo de contacto (WCA)

La hidrofobicidad de los andamios se evaluó mediante mediciones del ángulo de contacto con el agua (WCA) utilizando el método de gota (gotas con un volumen aproximado de 5  $\mu\text{L}$ ). Se midieron los ángulos de los lados derecho e izquierdo de las gotas de agua desionizadas y se calculó el valor promedio. El equipo utilizado fue un analizador de forma de gota (Krüss).

#### **3.3.2 Evaluación morfológica**

##### Microscopía electrónica de barrido (SEM)

El examen microscópico de los andamios se realizó con un XL 30 (Philips XL Series) a un voltaje de aceleración de 15 kV. Previamente, las muestras se cubrieron con una película de Au en un recubrimiento por pulverización catódica de alta resolución. Para el análisis de imagen se usó un programa (software) de procesamiento digital (*ImageJ*) para determinar el tamaño de las fibras.

#### **3.3.3 Evaluación mecánica**

Las mediciones de tracción se realizaron usando un equipo ElectroForce 3200 (TA Instruments). Para ello, se agarran los andamios con unas mordazas y se someten a una velocidad extensional de  $0.1 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Durante estos ensayos se registran los esfuerzos y las deformaciones hasta la rotura. A partir de estos ensayos se determinan el módulo de Young, la resistencia a la tracción máxima y la deformación en la rotura.

### **3.4 Análisis estadístico**

Por cada técnica se realizaron al menos tres mediciones de cada muestra. El análisis estadístico se realizó comparando los valores medios (*t* de Student) y se realizó un análisis de varianza (ANOVA,  $p < 0.05$ ) utilizando el paquete estadístico SPSS 18. Además, se incluyeron las desviaciones estándar de algunos parámetros seleccionados.

## **4. Resultados y discusión**

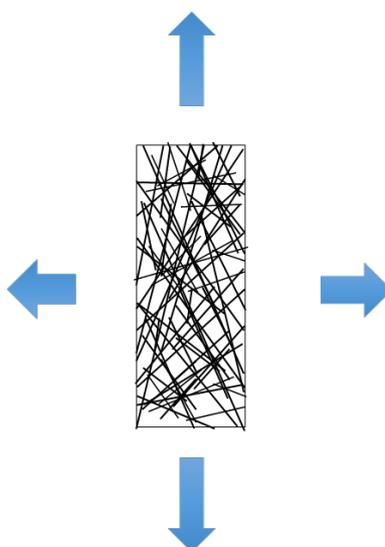
### **4.1 Caracterización de los andamios de nanofibras**

Se ha realizado una caracterización morfológica y mecánica de los andamios en dos direcciones diferentes (como se muestra esquemáticamente en la Figura 1): en la misma

dirección que la formación de fibras (llamada dirección paralela) y en la dirección perpendicular.

En este sentido, se midieron y compararon en ambas direcciones las propiedades de los andamios de nanofibras al azar (aleatorio) y orientado de manera ordenada (alineado).

**Figura 1: Esquema de la evaluación anisotrópica de andamios de nanofibras elaborados por electrohilado**



#### 4.1.1 Evaluación morfológica

La Tabla 2 muestra los valores obtenidos para las mediciones del ángulo de contacto de los andamios en las dos direcciones mencionadas anteriormente. Primero, todos los valores estaban por debajo de  $65^\circ$ , concluyendo que todos los sistemas presentaban un carácter hidrofílico (Law, 2014). Además, al comparar los valores obtenidos para cada sistema, no hubo diferencias significativas en el ángulo de contacto obtenido para las dos direcciones medidas en el andamio orientado aleatoriamente. Sin embargo, los valores del ángulo de contacto obtenidos en la dirección paralela a la orientación de las nanofibras fueron significativamente más bajos que los obtenidos por el sistema en su dirección perpendicular.

**Tabla 2: Valores de ángulo de contacto y tamaño medio de fibras medidos tanto en la dirección paralela y perpendicular de los andamios elaborados con PCL y gelatina por electrohilado (con orientación aleatoria y alineada). Se han añadido letras para indicar las diferencias significativas entre los sistemas ( $p < 0,05$ )**

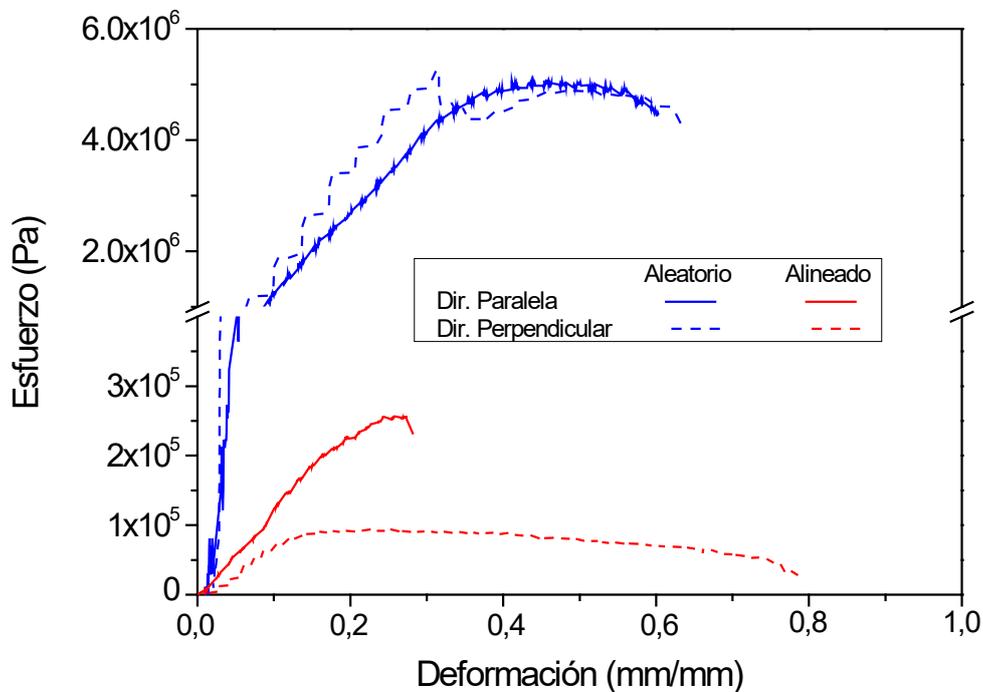
SISTEMAS		Ángulo de contacto ( $^\circ$ )	Tamaño medio de fibras ( $\mu\text{m}$ )
Aleatorio	Paralelo	50,5 <sup>a</sup>	0,307 <sup>A</sup>
	Perpendicular	52,7 <sup>a</sup>	
Alineado	Paralelo	31,4 <sup>b</sup>	0,235 <sup>A</sup>
	Perpendicular	62,7 <sup>c</sup>	

Estos resultados concluyen que la humectabilidad de los sistemas es mejor en la dirección de la orientación de la fibra y, por lo tanto, el valor del ángulo de contacto es menor. Por lo tanto, durante la adhesión y la proliferación celular, las células crecen en la dirección de la orientación de la fibra, como se muestra en Pandey et al. (2018). Además, el análisis de las imágenes SEM demuestran que la alineación de las fibras no causa cambios significativos en su tamaño medio, obteniendo fibras con un tamaño promedio entre 0,200 y 0,350  $\mu\text{m}$  (Tabla 2).

#### 4.1.2 Evaluación mecánica

Aparte de la caracterización morfológica, los andamios se caracterizaron mecánicamente en ambas direcciones. Las curvas de esfuerzo-deformación se muestran en la Figura 2.

**Figura 2: Curvas de esfuerzo-deformación realizadas tanto en la dirección paralela como perpendicular de los andamios elaborados con PCL y gelatina procesados por electrohilado (con orientación aleatoria y alineada)**



Todas las curvas exhiben un comportamiento similar, que consiste en una región lineal inicial, que corresponde a la deformación elástica, seguida de una región de deformación plástica, caracterizada por una disminución continua en la pendiente de tensión-deformación, pasando por un valor máximo. Finalmente, cada sistema se rompió a un valor de deformación diferente.

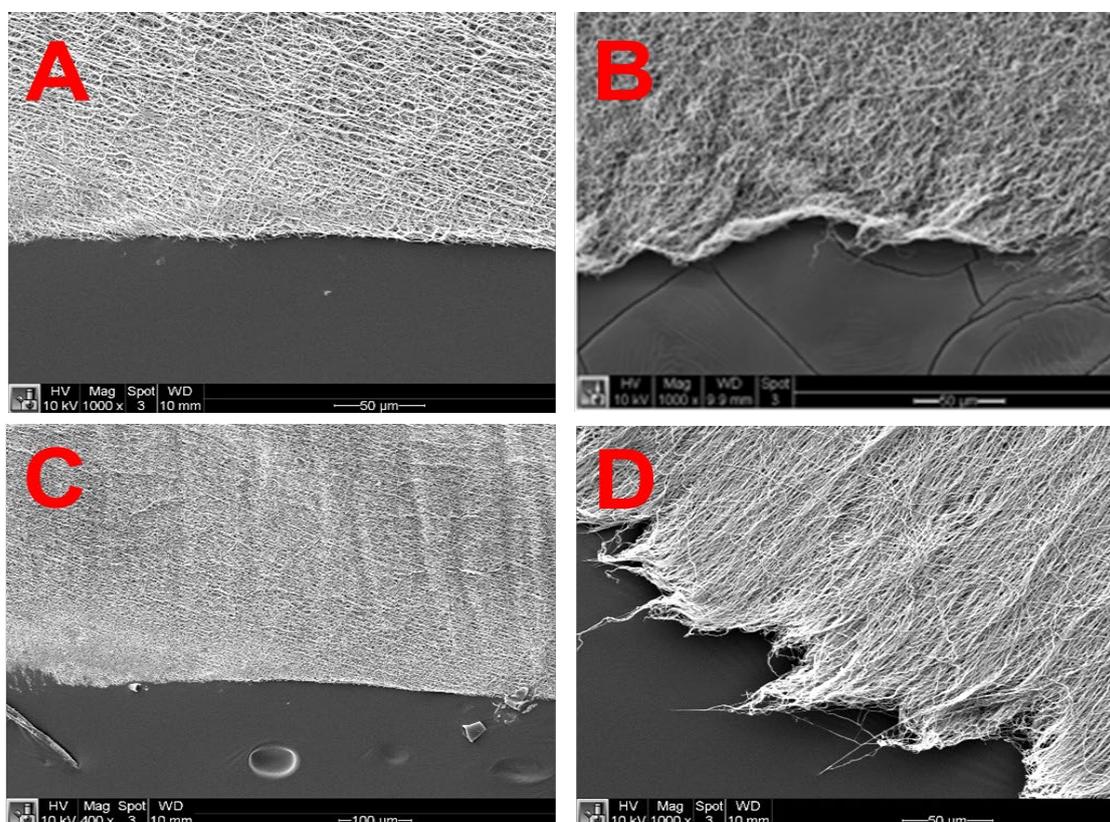
Los parámetros evaluados (módulo de Young, deformación en la rotura y esfuerzo máximo) se resumen en la Tabla 3. Comparando el efecto de la dirección en cada andamio, se puede observar que todos los parámetros presentan diferencias significativas dependiendo de la dirección de la medición para el sistema formado por fibras alineadas, mientras que para el sistema con fibras distribuidas aleatoriamente ninguno de los parámetros evaluados presenta diferencias significativas.

**Tabla 3: Valores de módulo de Young, esfuerzo máximo y deformación en la rotura medidos tanto en la dirección paralela y perpendicular de los andamios elaborados con PCL y gelatina por electrohilado (con orientación aleatoria y alineada). Se han añadido letras para indicar las diferencias significativas entre los sistemas ( $p < 0,05$ )**

SISTEMAS		Módulo de Young (MPa)	Esfuerzo Máximo (MPa)	Deformación en la rotura (mm/mm)
Aleatorio	Paralelo	6,3 <sup>a</sup>	3,8 <sup>A</sup>	0,63 <sup>a</sup>
	Perpendicular	7,2 <sup>a</sup>	4,0 <sup>A</sup>	0,67 <sup>a</sup>
Alineado	Paralelo	2,3 <sup>b</sup>	0,3 <sup>B</sup>	0,31 <sup>b</sup>
	Perpendicular	0,8 <sup>c</sup>	0,1 <sup>A</sup>	0,66 <sup>c</sup>

Cabe destacar la rotura producida en el andamio después de realizar la prueba mecánica (Figura 3). Se pueden observar dos tipos de fracturas dependiendo de la dirección del esfuerzo aplicado y la muestra en la que se aplica. Para el sistema aleatorio, la rotura observada fue similar a la dirección de medición. Por otro lado, los dos tipos de ruptura que tuvieron lugar en el sistema alineado evidencian cómo la rotura fue mucho más uniforme y homogénea cuando la prueba se realizó en la dirección perpendicular a la orientación de las fibras.

**Figura 3: Imágenes de SEM de la rotura de los andamios elaborados con PCL y gelatina por electrohilado: (A) Aleatorio perpendicular, (B) Aleatorio paralelo, (C) Alineado perpendicular y (D) Alineado paralelo**



## 5. Conclusiones

Como conclusión general, se ha demostrado que la técnica de electrohilado permite crear materiales anisotrópicos, que exhiben diferentes propiedades dependiendo de la dirección de medición.

El sistema orientado aleatoriamente no mostró diferencias significativas al medir sus propiedades en las direcciones paralelas y perpendiculares con respecto a la formación de fibras. Sin embargo, el sistema alineado presentó diferencias significativas en todas las propiedades al medirlas en estas dos direcciones. El módulo de Young y la tensión máxima mostraron valores más bajos en la dirección perpendicular, mientras que el ángulo de contacto y la deformación en la rotura fueron más bajos al medirlos en la dirección paralela de la formación de la fibra. Estas diferencias quedan patentes mediante imágenes de microscopía.

En respuesta a la hipótesis de partida planteada, se puede confirmar que las propiedades de los andamios obtenidos dependen de la dirección de medición, confirmando así que la alineación de las fibras influye en la variación de las propiedades. Sin embargo, la mayor limitación encontrada en este trabajo ha estado relacionada con la manipulación de muestras tanto durante el procesado como en la caracterización de las mismas.

## Agradecimientos

Este trabajo es parte de un proyecto de investigación financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Ref. RTI2018-097100-B-C21). Los autores agradecen su apoyo financiero. Los autores también agradecen al "Ministerio de Educación y Formación Profesional" por la beca predoctoral de M. Jiménez-Rosado (FPU2017 / 01718). Los autores también agradecen a los Servicios de Investigación de la Universidad de Sevilla (CITIUS) por conceder acceso y asistencia con los servicios de microscopía.

## Referencias

- Aldana, A. A., & Abraham, G. A. (2017). Current advances in electrospun gelatin-based scaffolds for tissue engineering applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 523(2), 441–453.
- Chortos, A., Liu, J., & Bao, Z. (2016). Pursuing prosthetic electronic skin. *Nature Materials*, 15, 937-950.
- Doshi, J., & Reneker, D. H. (1995). Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics*, 35(2), 151–160.
- Dulnik, J., Denis, P., Sajkiewicz, P., Kołbuk, D., & Choińska, E. (2016). Biodegradation of bicomponent PCL/gelatin and PCL/collagen nanofibers electrospun from alternative solvent system. *Polymer Degradation and Stability*, 130, 10–21.
- Dunn, A. C., Cobb, J. A., Kantzios, A. N., Lee, S. J., Sarntinoranont, M., Tran-Son-Tay, R., & Sawyer, W. G. (2008). Friction Coefficient Measurement of Hydrogel Materials on Living Epithelial Cells. *Tribology Letters*, 30(1), 13.
- Fereshteh, Z., Fathi, M., Bagri, A., & Boccaccini, A. R. (2016). Preparation and characterization of aligned porous PCL/zein scaffolds as drug delivery systems via

- improved unidirectional freeze-drying method. *Materials Science and Engineering C*, 68, 613–622.
- Frenot, A., & Chronakis, I. S. (2003). Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 8(1), 64-75.
- Gautam, S., Dinda, A. K., & Mishra, N. C. (2013). Fabrication and characterization of PCL/gelatin composite nanofibrous scaffold for tissue engineering applications by electrospinning method. *Materials Science and Engineering C*, 33(3), 1228–1235.
- Gümüřdereliođlu, M., Dalkıranođlu, S., Aydın, R. S. T., & akmak, S. (2011). A novel dermal substitute based on biofunctionalized electrospun PCL nanofibrous matrix. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 98A(3), 461–472.
- Jose, M. V, Thomas, V., Dean, D. R., & Nyairo, E. (2009). Fabrication and characterization of aligned nanofibrous PLGA / Collagen blends as bone tissue scaffolds. *Polymer*, 50(15), 3778–3785.
- Kai, D., Prabhakaran, M. P., Jin, G., & Ramakrishna, S. (2011). Guided orientation of cardiomyocytes on electrospun aligned nanofibers for cardiac tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 98 B(2), 379–386.
- Law, K. Y. (2014). Definitions for hydrophilicity, hydrophobicity, and superhydrophobicity: Getting the basics right. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 5(4), 686–688.
- O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88–95.
- Pandey, S., Rathore, K., Johnson, J., & Cekanova, M. (2018). Aligned nanofiber material supports cell growth and increases osteogenesis in canine adipose-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 106(7), 1780–1788.
- Perez-Puyana, V., Jiménez-Rosado, M., Romero, A., & Guerrero, A. (2018). Development of PVA/gelatin nanofibrous scaffolds for Tissue Engineering via electrospinning. *Materials Research Express*, 5(3), 035401.
- Suzuki, Y., & Miwa, S. (2019). Magnetic anisotropy of ferromagnetic metals in low-symmetry systems. *Physics Letters, Section A: General, Atomic and Solid State Physics*, 383(11), 1203–1206.