

УДК 61:577

Аліна МАКСІМОВА, студент,

Маргарита ЧАЛЕНКО, студент,

Олена БЕСПАЛОВА, к.б.н., доцент

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,
м Київ, Україна, e-mail: maksimova-bf01@lil.kpi.ua, chalenko-bf01@lil.kpi.ua, e.bespalova25.05@gmail.com

ЗАСТОСУВАННЯ ПАВУКОВОГО ШОВКУ В ТКАНИННІЙ ІНЖЕНЕРІЇ

Анотація. Павуковий шовк є досить перспективним різновидом природного біоматеріалу для активного використання в біоінженерії. Цей біоматеріал має кращі механічні властивості і біосумісність порівняно з іншими натуральними та штучними матеріалами. У цій статті підсумовується структура та характеристики натурального павукового шовку, перспективи створення біоматеріалу та його застосування у медицині. Характеристика матеріалу включає в себе опис біокомпозитів на основі білків та волокон павутинного шовку, згадку про наноматеріали та штучно створені волокна на основі павутинного шовку та конструкцію павутини. Також представлені принципи та особливості нового матеріалу, його потенційне застосування в майбутньому. Крім того, з точки зору практичного використання, представлені останні застосування біоматеріалу на основі павутинного шовку в галузі медицини.

Ключові слова: павуковий шовк, біоматеріали, тканинна інженерія, біосумісність, фібронектин.

Вступ. Павуковий шовк – матеріал, створений дикою природою, який неодноразово надихав вчених на розробку свого штучного аналога. Основні хімічні компоненти павутинного шовку – це гліцин, аланін і невелика кількість серину. Він тонкий і м'який на вигляд і має чудову еластичність і міцність. Натуральна павутина подібна до натурального шовку, але її характеристики краще в усіх аспектах. Драглайнові шовкові волокна павука, як правило, більш пластичні і сильні, ніж у шовку [1]. Крім того, шовкові волокна павука мають дуже високе співвідношення міцності до щільності і можуть поглинати велику енергію удару.

Мета роботи: розглянути основні характеристики павукового шовку та застосування в тканинній інженерії.

Матеріали та методи. Природний біоматеріал павуковий шовк.

Результати та їх обговорення. Структура павукового шовку, подібно до інших біоматеріалів, ієрархічна. Перший рівень займає білок сімейства спідроїн, який складається в

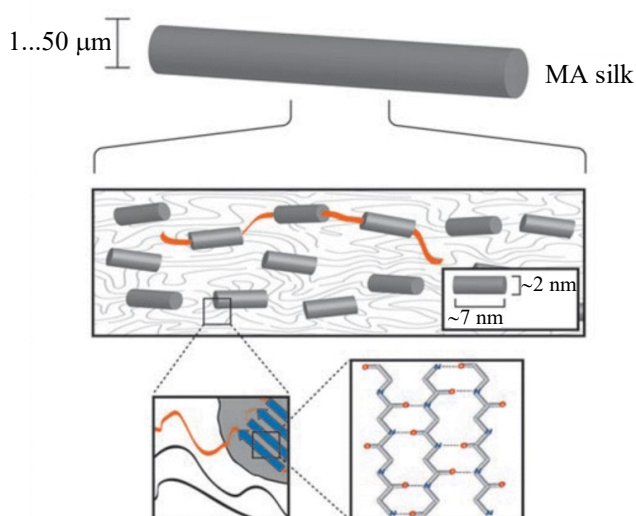


Рис. 1. Схематична структура білка спідроїна павукового шовку [2]

основному з амінокислот гліцину та аланіну. Наступний рівень включає короткий бічний ланцюг аланіну, який переважно локалізується в кристалічних областях; гліцин в свою чергу знаходиться у аморфній матриці, яка складається з бета-поворотних і спіральних структур (рис. 1). Через ковалентні зв'язки між твердими кристалічними областями та пружними аморфними сегментами, павуковий шовк водночас сильний і пластичний матеріал [2].

Подовження павутинного шовку дещо вище, ніж подовження шовку та нейлону. Також подовження при розриві може досягати у два-чотири рази своєї довжини, що набагато вище, ніж у сталі та кевлару, тому павутинний шовк дуже еластичний. Міцність на розрив павутинного

шовку приблизно в п'ять разів перевищує міцність сталі, подібна до кевлару, і набагато краща, ніж у шовку та нейлону (табл. 1) [3]. Павуковий шовк має найвищу енергію розриву, тому його міцність набагато краща, ніж у інших матеріалів. Виходячи з наведених вище характеристик, павутина може витримувати великі сили удару без пошкоджень, а її статичні навантаження та стійкість до ударів кращі, ніж у інших штучних та природних матеріалів.

Таблиця 1

Порівняльна характеристика павукового шовку відносно інших матеріалів

Матеріал	Подовження при розриві, %	Міцність, Н/м ²	Порушення енергії
Павуковий шовк	35...40	5·10 ⁹	1·10 ⁵
Нейлон	18...26	5·10 ⁸	8·10 ⁴
Кевлар	2...5	4·10 ⁹	3·10 ⁴
Шовк шовкопряду	15...35	6·10 ⁸	7·10 ⁴
Сталь	8.0	1·10 ⁹	5·10 ³

Павуковий шовк має хороші температурні характеристики. Його структура може бути зруйнованою, коли температура перевищить 300 °С [4]. Також павуковий шовк зберігає свою еластичність при низьких температурах і може затвердіти, коли позначка а термометрі покаже менше – 40 °С.

Основним компонентом павутинного шовку є нетоксичний білок спідроїн. На даний момент в організмі людини не виявлено реакції імунного відторгнення на білок павутинного шовку, тому він має хорошу біосумісність. При руйнуваннях за певних умов продукти деградації можуть поглинатися людськими тканинами, тому він є ідеальним матеріалом для швів і виготовлення протезів [5].

Павуковий шовк дуже чутливий до води [3]. При зануренні у воду волокна павутинного шовку зменшуються і впливають на механічні властивості. Це явище усадки павутинного шовку називається супер скороченням. Під впливом вологості змінюється розмір волокон, а також змінюються його властивості на розтяг.

Павуковий шовк використовується в різних галузях промисловості, і спектр його застосування в біомедицині з кожним днем збільшується. Наприклад, у військовій і оборонній промисловості використовуються бронежилети з цих волокон. Також павуковий шовк уже широко застосовується у текстильній галузі, автомобільній та аерокосмічній промисловостях. Ми ж розглянемо вагомий вплив цього матеріалу на розвиток медицини та біоінженерії.

Як найбільший орган нашого тіла, шкіра забезпечує зовнішній захисний бар'єр для наших внутрішніх органів від небезпеки навколишнього середовища та шкідливих патогенів. Коли виникає шкірна рана, утворюється порожнина, яка порушує нормально здорову структуру та функцію епітеліальної тканини.

При недостатній спроможності шкіри самозагоюватися, наприклад при діабетичних виразках, тяжких опіках чи глибоких ранах, часто використовують біоактивні перев'язувальні матеріали. Павуковий шовк продемонстрував унікальний потенціал у широкому спектрі застосувань при загоєнні ран. Останнім часом було виявлено, що при нанесенні на моделі шкіри *in vitro* волокна натурального павутинного шовку значно покращують розвиток епідермальних шарів над волокнами та підтримують кератинізацію (послідовний, пошаровий процес в епідермісі, що протікає з утворенням речовин, що захищають шкіру від впливу несприятливих зовнішніх факторів). При нанесенні на опікові рани *in vivo* павуковий шовк продемонстрував чудові властивості щодо активізації загоєння ран [6].

Потенціал загоєння ран з використанням волокон павутинного шовку згодом призвів до його використання в біосумісних швах для закриття та/або лігування різних м'яких тканин під час очних, нервових та серцево-судинних операцій [6, 12]. Незважаючи на високу міцність павутинного шовку на розрив, цей матеріал обмежений у своїх антимікробних

властивостях. У результаті шви з павутинного шовку часто потрібно обробляти антимікробними засобами, які не погіршують міцність, міцність вузлів, поверхнєве тертя або біосумісні властивості шовкового волокна.

Біоматеріал, який використовується для тканинної інженерії, повинен бути ретельно відібраний і, відповідно, включати фізичні, хімічні та біологічні властивості, які необхідні для керування клітинною міграцією, адгезією та диференціюванням для створення функціональних тканин. Крім того, швидкість біорезорбції біоматеріалу, що використовуються для цієї мети, повинна бути співмірною з утворенням нової тканини – синтезу екстрацелюлярного матриксу [11].

Необхідним механізмом, який має вирішальне значення для створення та підтримки життя в тканинах залишається адгезія клітин. Оскільки шовкоподібними полімерами можна маніпулювати на генетичному рівні, практикується введення біоактивних доменів, таких як фібронектин, щоб покращити біологічні характеристики цих біоматеріалів. Фібронектин – це багатофункціональний і багато доменний глікопротеїн, який відіграє важливу роль у різних клітинних процесах, зв'язуючись з різними рецепторами інтегрину в позаклітинному матриксі. З трьох різних типів білків фібронектину, фібронектин типу II (FNII) зазвичай міститься в білках матричної металопротеїнази-2 (MMP-2) і MMP-9, які пов'язані з покращеною адгезією клітин і активністю зв'язування колагену [10].

Генетично об'єднали послідовність ДНК білка шовку павука з послідовністю, що кодує FNII, щоб створити нову нецитотоксичну суміш біополімерів на основі шовку [8]. На додаток до ефективного виробництва біоматеріалу з виходами, які були в 10 разів вищими, ніж у інших функціоналізованих білків павутинного шовку, дослідники також виявили, що цей химерний матеріал мав виняткові механічні властивості, які можна порівняти з іншими біополімерами, такими як полімолочна кислота (ПМК), змішують тонкі нитки фіброїну з рекомбінантним колагеном, подібним до людини, і нитками з рекомбінантного павутинного шовку. Отриманий біоматеріал не викликав жодної цитотоксичності для нормальних фібробластів шкіри людини при оцінці *in vitro*, а також було виявлено, що він сприяє адгезії клітин у цій моделі.

Проведено ряд досліджень щодо використання павукового шовку як біоматеріалу для інженерії кісткової тканини [9,10]. Шовк був у центрі уваги через хороші механічні властивості та механічну стабільність при обробці *in vitro* порівняно з колагеном. Також дослідження показали, перспективність використання павукового шовку, як матеріалу для інженерії серцевої тканини. У роботах [11,12] досліджували зв'язок первинних клітин серця щура з волокнами павукового шовку. Кардіоміоцити продемонстрували хорошу взаємодію при контакті з позитивно зарядженою поверхнею павутинного шовку, яка виявила цікаву селективність у зв'язуванні клітин, оскільки неміоцити, такі як фібробласти, ендотеліальні клітини та клітини гладких м'язів, погано зв'язувалися з волокнами шовку.

Висновок. У цьому огляді проілюстровано потенціал біоматеріалів павутинного шовку для застосування в тканинній інженерії. Завдяки відмінній біосумісності, павуковий шовк безперечно розглядається як матеріал для створення штучних тканин. Таким чином, перспективні застосування можна побачити у розробці штучних біоактивних матеріалів для покращеного загоєння ран, трансплантатів для зв'язок, нервів, кісток і шкіри. На шляху до майбутнього успіху матеріалів з павутинного шовку наступним кроком будуть подальші клінічні випробування, щоб поліпшувати знання про павучий шовк та отримати схвалення для їх застосування в тканинній інженерії.

Література

1. Kim O-H, Yoon OJ, Lee HJ. Silk fibroin scaffolds potentiate immunomodulatory function of human mesenchymal stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;519:323–9.
2. Lin Römer & Thomas Scheibel (2008) The elaborate structure of spider silk 154–161 doi.org/10.4161/pri.2.4.7490

3. Elices M, Rez-Rigueiro J, Plaza G. Recovery in spider silk fibers. *J Appl Polym Sci.* 2010;92:3537–41.
4. Kuhbier JW, Allmeling C, Reimers K, Hillmer A, Kasper C, Menger B, et al. Interaction between spider silk and cells. *PLoS One.* 2010;5:e12032.
5. Liu Y, Spohner A, Porter D, Vollrath F. Proline and processing of spider silks. *Biomacromolecules.* 2007;12:1–6.
6. Chouhan, D., & Mandal, B. B. (2020). Silk biomaterials in wound healing and skin regeneration therapeutics: From bench to bedside. *Act Biomaterialia* 103; 24-51. doi:10.1016/j.actbio.2019.11.050.
7. Meyer A, Pugno NM, Cranford SW. Compliant threads maximize spider silk connection strength and toughness. *J R Soc Interface.* 2014;11:20140561.
8. Pereira, A. M., Machado, R., da Costa, A., et al. (2017). Silk-based biomaterials functionalized with fibronectin type II promotes cell adhesion. *Acta Biomaterialia* 47(1); 50–59. doi:10.1016/j.actbio.2016.10.002.
9. Hardy, J.G.; Torres-Rendon, J.G.; Leal-Egaña, A.; Walther, A.; Schlaad, H.; Cölfen, H.; Scheibel, T.R. Biomaterialization of engineered spider silk protein-based composite materials for bone tissue engineering. *Materials* 2016, 9, 560.
10. Yang, L.; Hedhammar, M.; Blom, T.; Leifer, K.; Johansson, J.; Habibovic, P.; van Blitterswijk, C.A. Biomimetic calcium phosphate coatings on recombinant spider silk fibres. *Biomed. Mater.* 2010, 5, 45002.
11. Aigner, T.B.; DeSimone, E.; Scheibel, T. Biomedical applications of recombinant silk-based materials. *Adv. Mater. Weinheim.* 2018, 30, e1704636.
12. Petzold, J.; Aigner, T.B.; Touska, F.; Zimmermann, K.; Scheibel, T.; Engel, F.B. Surface features of recombinant spider silk protein eADF4(κ16)-made materials are well-suited for cardiac tissue engineering. *Adv. Funct. Mater.* 2017, 27, 1701427.