

# БИОИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ФИБРОИНА ШЕЛКА И СПИДРОИНА ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2017.9.2.24

УДК 576.535:57.089.7:614.23

Поступила 11.04.2016 г.

**О.И. Агапова**, научный сотрудник лаборатории бионанотехнологийФедеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова  
Минздрава России, Москва, 123182, ул. Щукинская, 1

Представлены данные о современных разработках биоинженерных конструкций из двух уникальных биополимеров: основного белка шелка шелкопряда (фиброина) и каркасного шелка паутины (спидроина) — и их использовании в регенеративной медицине и тканевой инженерии. Оба биополимера обладают такими важными свойствами, как биосовместимость, биodeградируемость, высокая прочность и эластичность. Доступность коконов шелкопряда в природе и отлаженные методы очистки фиброина делают этот белок весьма перспективным для применения в составе биоинженерных конструкций. Белок паутины менее распространен в природе, однако разработка альтернативных методов его получения позволяет считать спидроин многообещающим биополимером.

Рассмотрены структура и свойства фиброина шелка и спидроина, их преимущества по сравнению с другими полимерами как природного, так и синтетического происхождения, технологии изготовления биополимерных конструкций. Показано, что фиброин шелка и спидроин применяют для создания трехмерных матриц, способствующих восстановлению поврежденных органов и тканей, биodeградируемых носителей клеток и лекарственных препаратов.

**Ключевые слова:** фиброин шелка; спидроин; биоинженерные конструкции; регенеративная медицина.

**Как цитировать:** Agapova O.I. Silk fibroin and spidroin bioengineering constructions for regenerative medicine and tissue engineering (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(2): 190–206, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.2.24>

## English

## Silk Fibroin and Spidroin Bioengineering Constructions for Regenerative Medicine and Tissue Engineering (Review)

**O.I. Agapova**, Researcher, Bionanotechnology LaboratoryAcademician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Health  
of the Russian Federation, 1 Stchukinskaya St., Moscow, 123182, Russian Federation

The review is about the developments of modern bioengineering constructs from two unique biopolymers: the main protein of silkworm silk, fibroin, and frame silk of spider web, spidroin, and their applications in regenerative medicine and tissue engineering. Both types of polymers possess such important properties as biocompatibility, biodegradability, high strength and elasticity. Availability of silkworm cocoons in nature, debugged methods of fibroin purification make this protein very perspective in bioengineering constructs. A spider web protein, spidroin, is less common in nature, but the development of alternative methods for its production makes it a promising biopolymer.

The structure and properties of silk fibroin and spidroin, their advantages over other natural and synthetic polymers, technologies of biopolymer construct fabrication are considered in this review. Silk fibroin and spidroin are shown to be applied for creation of 3D matrices promoting regeneration of damaged organs and tissues, biodegradable cell carriers and pharmaceutical preparations.

**Key words:** silk fibroin; spidroin; bioengineering constructs; regenerative medicine.

Для контактов: Агапова Ольга Игоревна, e-mail: [olya.agape@gmail.com](mailto:olya.agape@gmail.com)

Выбор материала для регенеративной медицины, а также технология изготовления из него биоинженерных конструкций зависят от области применения: костная ткань, кровеносные сосуды, кожа, мышечная ткань, нервные волокна. Для успешного использования биоматериала должен обладать определенными химическими, биологическими и механическими свойствами [1, 2]. К требуемым химическим свойствам относят отсутствие вредных химических реакций с тканями и межтканевыми жидкостями, резорбцию с контролируемой скоростью внутри организма [3]. Необходимыми механическими свойствами являются прочность конструкции и возможность осуществлять хирургические манипуляции. Главной биологической характеристикой материала служит его биосовместимость с организмом. Всеми этими достоинствами обладают основной белок шелка шелкопрядов (фиброин) и каркасный белок шелка паутины (спидроин).

### Структура и свойства биополимеров

**Фиброин шелка.** Фиброин является основным белком шелка, который получают из коконов шелкопряда *Bombyx mori* и родственных видов. Он представляет собой гетеродимер, состоящий из двух ковалентно связанных через дисульфидные мостики цепей [4, 5]. Гликозилированный белок P25 с массой 30 кДа объединен с Fib-L и Fib-H гидрофобными связями [6]. Предполагается, что этот комплекс может формироваться из 6 тяжелых и 6 легких цепей на одну молекулу гликозилированного белка P25 [7]. Легкая и тяжелая цепи фиброина, а также белок P25 кодируются в геноме отдельно [4]. Первичную последовательность фиброина составляют глицин (43%), аланин (30%), серин (12%) [8]. В меньшем количестве в него входят тирозин (5%), валин (2%), аспарат, глутамат и цистеин, который выполняет главную интегрирующую роль в объединении разных субъединиц в одну молекулу. Глицин, аланин и серин составляют основную структурную последовательность Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser тяжелой цепи Fib-H — 70% всей белковой последовательности [9]. Встречаются похожие последовательности: Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Tyr (20%), Gly-Ala-Gly-Tyr-Gly-Ala (6%), Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala (4%), которые образуют основу 12 регулярных гидрофобных кристаллических блоков, длина каждого из них 413 аминокислотных остатка. Эти 12 блоков — 94% общей белковой последовательности, и разделяются они 11 нерегулярными аморфными промежуточными участками длиной в 42–43 аминокислотных остатка с отрицательным зарядом [8].

Натуральный шелк не растворяется в воде, а также в разбавленных растворах многих кислот и щелочей, но растворим в концентрированных растворах хлорида лития, тиоцианата лития и кальция, хлорида кальция. Благодаря тому, что фиброин способен формировать  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -складки, он существует в нескольких структурных формах: 1-я — рыхлая, гло-

булярная, нестабильная и механически непрочная; 2-я — обогащенная  $\alpha$ -спиралями аморфной формы (silk I), устойчивая и упругая; 3-я — кристаллическая  $\beta$ -форма (silk II) — обладает самой высокой прочностью на разрыв, устойчива к сильным механическим воздействиям, однако менее упругая, чем  $\alpha$ -форма [8]. Фиброин способен длительно сохранять кристаллическую структуру [10]. Насыщенная  $\beta$ -структурами форма белка задает и поддерживает конструкцию имплантата, создаваемого из фиброина шелка, обеспечивает ее целостность и стабильность в близких физиологической среде организма водных растворах [11]. В связи с этим конструкции из фиброина перед применением необходимо подвергать  $\beta$ -кристаллизации в среде культивирования или в условиях *in vivo*. Доля фиброина в шелковой нити составляет 70–80% массы белка, остальная часть — это серицин, который выполняет роль клея, скрепляя фибриллы фиброина в коконе, а также несколько процентов жирных и воскоподобных веществ и неорганических анионов и катионов (менее 1%) [12, 13].

Фиброин является термостабильным белком, температура его денатурации выше 127°C. Модуль упругости фиброина равен 15–17 ГПа, белок обладает высокой прочностью на разрыв (610–690 МПа). Фиброин характеризуется высокой прозрачностью, его способность пропускания видимого спектра излучения составляет 90–95%, а коэффициент преломления фиброиновых пленок равен 1,55 при толщине 30–50 мкм [14].

Фиброин применяется в регенеративной медицине в качестве материала для изготовления матриц [15, 16], пленок [17], а также входит в состав конструкций для доставки лекарственных и биологически активных веществ в организм [18, 19]. Кроме того, он обладает антимикробной активностью, поэтому может быть рекомендован к использованию в качестве нового природного антибактериального биоматериала [20].

**Спидроин.** Каркасный шелк паутины синтезируется пауками [21]. Наиболее изучены свойства паутины пауков рода *Nephila*, представителем которого является *Nephila clavipes*, синтезирующий паутину нескольких видов [21, 22]. Основными ампулярными железами он вырабатывает каркасный шелк паутины, чьи нити очень эластичны, характеризуются высокой прочностью на разрыв, сопоставимой с кевларом и превышающей сталь, что делает его уникальным среди других природных, а также большей части искусственных материалов [23]. Шелк паутины устойчив к условиям внешней среды, обладает высокой биосовместимостью и способностью к биодеградации. Такие свойства объясняются структурой материала. В состав каркасной нити входят два ковалентно связанных белка: спидроин 1, который кодируется геном *MASP1* (образует кристаллические  $\beta$ -складчатые структуры), и спидроин 2, кодирующийся геном *MASP2* (образует аморфный матрикс).

Спидроины — высокомолекулярные белки: молекулярная масса выделенных спидроинов — 300–350 кДа, димерных форм — 550–650 кДа [24]. Спидроины имеют периодическое строение с большим числом прямых повторов [25]. Первичная последовательность, обогащенная полиаланиновыми и насыщенными глицином последовательностями, формирует неоднородную вторичную структуру, а сегменты кристаллического строения, состоящие из антипараллельных  $\beta$ -складчатых структур, чередуются с менее структурированными участками так называемого аморфного матрикса [26]. Этот матрикс, богатый глицином, представляет собой спиральные участки и случайные петли, но при этом не является бесструктурным, так как его макромолекулы ориентированы преимущественно параллельно вертикальной оси спидроиновых фибрилл [27].

Существует два типа кристаллических доменов: плотно упакованные и строго ориентированные  $\beta$ -складчатые, а также свободно расположенные складчатости. В формировании кристаллических доменов участвует 90% аланиновых остатков, а  $\beta$ -складчатые структуры расположены параллельно оси волокна. В высокоупорядоченных областях метильные группы аланиновых остатков ориентированы относительно осей цепей строго под углом  $90^\circ$ . В менее упорядоченных — метильные группы аланиновых остатков не имеют строгой ориентации относительно оси волокна и обладают большей возможностью для пространственной переориентации [27]. Кристаллические части макромолекулы отвечают за высокую прочность на разрыв, а аморфный матрикс — за эластичность. У кристаллических доменов и аморфного матрикса нет четких структурных границ. Макромолекула спидроина способна к структурным переходам, уменьшая или увеличивая кристаллическость. Изменяя условия прядения, можно влиять на эти переходы [28]. Каркасные нити паутины обладают высокой термостабильностью (до  $230^\circ\text{C}$ ). При  $210^\circ\text{C}$  начинается плавление основных кристаллических доменов, их предел прочности на разрыв равен 22 ГПа, а на растяжение — 1,1 ГПа, относительное удлинение — 9% [29]. В связи с наличием дефектов и колебаниями толщины получаемой нити механическая прочность натуральных белков может изменяться. Структура паутиной нити изменяется при хранении: в течение года после получения улучшаются показатели механической прочности и эластичности, однако она подвержена старению из-за распада аминных групп, поэтому при увеличении времени хранения падает прочность и эластичность [30]. Кроме того, к старению приводит ультрафиолетовое излучение [31]. Влажность среды влияет на степень гидратации нитей, что также сказывается на механических свойствах белков за счет изменения характера водородных связей между белковыми цепями [32]. При максимальной степени гидратации 2/3 массы нити составляет вода, которая связывается в основном аморфным

матриком [22]. Влажность оказывает положительное влияние на показатели растяжения, а также на модуль упругости.

Существуют рекомбинантные аналоги природных спидроинов, которые получают синтезом в клетках дрожжей *Pichia pastoris* и *Saccharomyces cerevisiae*, клетках млекопитающих, а также с использованием трансгенных животных и растений [33–35]. Рекомбинантные аналоги отличаются от натуральных материалов меньшей механической прочностью, которую впоследствии можно увеличить различными химическими и механическими методами — путем вытягивания нитей в метаноле [36] или кристаллизацией [37]. Введение дополнительных полинуклеотидных последовательностей в гены, кодирующие спидроины, также помогает модифицировать свойства материалов из рекомбинантных белков [38, 39]. На основе рекомбинантных аналогов можно создавать сополимеры, свойства которых будут отличаться от свойств нативных белков. Благодаря своим характеристикам каркасные белки паутины применяют для изготовления изделий в области регенеративной медицины [40].

Для полного понимания уникальности двух названных биополимеров и объективной оценки их преимуществ следует рассмотреть другие полимеры и сравнить их с фиброином шелка и спидроином.

### Синтетические полимеры

Одними из первых в области тканевой инженерии начали использовать биodeградируемые синтетические биоматериалы на основе полимеров органических кислот.

**Полигликолевая кислота** — биоразлагаемый, термопластичный полимер, самый простой линейный алифатический полиэфир [41]. Одним из преимуществ этого материала является способность присоединения дополнительных химических цепочек, приводящих к появлению новых свойств, что увеличивает диапазон применения. Благодаря своей кристаллической структуре этот полимер нерастворим в воде, его пластичность возрастает с повышением влажности, что позволяет легко формировать биоконструкции [42]. В настоящее время полигликолевая кислота широко применяется для создания хирургического шовного материала [43, 44]. Хирургические нити из полигликолевой кислоты не требуют удаления после операции. Они полностью рассасываются внутри организма в течение нескольких месяцев, растворяясь до углекислоты и воды.

**Полилактид** представляет собой алифатический полиэфир, мономером которого выступает молочная кислота. Он обладает термопластичностью, является биоразлагаемым и биосовместимым [45]. Из полилактидов изготавливают биоразлагаемые упаковки, средства личной гигиены, конструируют винты, пластины и штифты, фиксирующие переломы, хирургические нити [46], также их применяют при создании лекарст-

венных препаратов. Инкапсулированные в полилактид противомикробные вещества в различных концентрациях медленно и постепенно высвобождаются, предотвращая рост микроорганизмов [47]. Полилактид выступает в качестве исходного материала для печати в 3D-принтерах [48].

**Поликапролактон** — биоразлагаемый полиэфир, полимер  $\epsilon$ -капролактона. Поликапролактон устойчив к воде, растворителям и различным маслам, а также характеризуется низкой вязкостью и легко поддается обработке. При смешивании с крахмалом снижается его стоимость и повышается биоразлагаемость [21]. В медицине поликапролактон используют как шовный материал [49], а также в качестве носителя для доставки лекарств в организм [50], в косметологии — для изготовления филлеров [51, 52].

**Полиэтилентерефталат (ПЭТФ)** — биоинертный термопластик, в аморфном состоянии — твердое, бесцветное и прозрачное вещество, в кристаллическом — непрозрачное и белое [53]. При нагревании до температуры стеклования происходит его переход в прозрачное состояние, в котором материал и остается при резком охлаждении. Длина молекулы полимера влияет на вязкость ПЭТФ, — чем больше вязкость, тем ниже скорость кристаллизации [45, 54]. ПЭТФ практически нерастворим в воде и органических растворителях, устойчив к кислотам и слабым растворам щелочей, довольно прочен, износостоек и является диэлектриком. Изменяя химический состав боковых групп молекул полимера, можно производить материалы с разной скоростью деградации [54]. В медицине ПЭТФ используют для изготовления протезов костных сосудов [55], сухожилий, связок, клапанов сердца [56].

**Полиамиды** представляют собой пластмассу, в основе которой находятся линейные синтетические высокомолекулярные соединения. Алифатические полиамиды в расплавленном состоянии имеют низкую вязкость в небольшом температурном интервале [57], обладают высокой температурой плавления. Полиамиды характеризуются гидрофильностью [58], и их водопоглощение оказывает существенное влияние на ударную вязкость и прочность [59]. Из полиамидных волокон изготавливают хирургические нити, протезы кровеносных сосудов [60, 61].

**Полиуретаны** — гетероцепные полимеры, которые являются синтетическими эластомерами и содержат незамещенные или замещенные уретановые группы [62]. Полиуретаны устойчивы к воздействию кислот, минеральных масел и окислителей, они гидролитически более стойкие, чем полиамиды. В медицине полиуретаны применяют для изготовления имплантатов [63, 64], катетеров и трубок общего назначения [65], хирургических простыней и салфеток.

**Силиконы** — высокомолекулярные кислородсодержащие кремнийорганические соединения, включающие в себя полиорганосилоксаны (силиконовые масла, гидрофобизаторы, низкомолекулярные каучуки) и кремнийорганические мономеры (силаны) [66,

67]. На основе молекулярного веса, степени сшивки, вида и количества органических групп у атомов кремния силиконы можно разделить на три группы: силиконовые жидкости, у которых менее 3000 силоксановых звеньев; силиконовые эластомеры, содержащие от 3000 до 10 000 звеньев; силиконовые смолы с более чем 10 000 силоксановых звеньев, обладающие довольно высокой степенью сшивки [68, 69]. Силиконы имеют большое количество уникальных свойств. Они увеличивают или уменьшают адгезию белков и клеток, могут придавать материалам гидрофобность, сохраняют свойства при экстремальных температурах, а также их быстрых перепадах, обладают диэлектрическими качествами, химически и биологически инертны, эластичны, экологичны и нетоксичны [70, 71]. Изделия из силиконов резистентны к воздействию радиации, ультрафиолетового излучения, электрических полей.

### Природные полимеры

При изготовлении биоконструкций полимеры природного происхождения имеют значительные преимущества перед синтетическими полимерами. Продуктами распада таких материалов в организме являются естественные метаболиты, участвующие в биохимических процессах внутри клеток, поэтому биосовместимость природных полимеров значительно выше. Их механические характеристики не уступают свойствам изделий из синтетических полимеров.

**Коллаген** представляет собой фибриллярный структурный белок межклеточного матрикса, который является самым распространенным в организме млекопитающих (25–35% от общего количества белка в организме) и служит основой соединительной ткани, придавая ей эластичность и прочность. Молекула коллагена — это правозакрученная спираль из трех  $\alpha$ -цепей, один виток которой включает три аминокислотных остатка. Благодаря содержанию аргинин-глицин-аспартат-последовательностей (RGD-последовательностей) в первичной структуре коллаген является биоматериалом, обеспечивающим адгезию клеток [72, 73]. Он обладает низкими аллергенными свойствами, нетоксичен, но нерегулируемое и быстрое время биodeградации существенно сокращает срок функционирования коллагеновых изделий до 1 мес. При введении в организм коллаген стимулирует репаративные процессы [74], способствуя образованию собственного коллагена, однако не обеспечивает полной регенерации органа, поскольку рано рассасывается и образует рубцовую ткань. Формирование гетерогенной надмолекулярной структуры коллагенсодержащего геля [75, 76] позволяет замедлить биodeградацию. Коллаген обладает гемостатическими свойствами, поэтому его применяют при изготовлении искусственных клапанов и сосудов [77, 78].

**Желатин** — продукт гидролиза коллагена. Пористые желатиновые трубки [79] используют как

субстрат для зрелых мезенхимных стволовых клеток и гепатоцитов у крыс [80]. Установлено, что благодаря имплантации микросфер из желатина может поддерживаться рост церебральных нейронов, скелетных миобластов и кардиомиоцитов [81].

**Хитин** (поли-N-ацетил-D-глюкозамин) — азот-содержащий полисахарид, полимер из остатков N-ацетилглюкозамина, между которыми расположены бета-[1,4]-гликозидные связи. Хитин — самый распространенный природный полисахарид. Он является основным компонентом экзоскелета некоторых беспозвоночных [82], содержится в клеточных стенках грибов и бактерий, выполняет защитную и опорную функции [83]. Хитин — жесткий полупрозрачный полимер, он нерастворим в воде, устойчив к воздействию разбавленных кислот, щелочей, спирта и к другим органическим растворителям.

**Хитозан** — аминопалисахарид 2-амино-2-дезоксид-D-глюкана, образующийся при деацетилировании хитина. Хитозан может связывать большое количество органических водорастворимых веществ, например бактериальные токсины, поскольку способен создавать водородные связи. В растворенном виде он обладает большим сорбирующим действием [84]. Жиры, жирорастворимые соединения, предельные углеводороды связываются хитозаном благодаря эффекту молекулярного сита, а также гидрофобным взаимодействиям. С помощью таких микробных ферментов, как хитиназа и хитобиаза, хитин и хитозан расщепляются до N-ацетил-D-глюкозамина и D-глюкозамина, поэтому они являются экологически чистыми материалами. Хитин и хитозан используют для создания искусственных кровеносных сосудов, катетеров, шовных материалов. Из них изготавливают раневые, ожоговые, заживляющие покрытия и адгезивы [85], они входят в составы конструкций для доставки лекарств [86, 87]. Из хитозана формируют устойчивые и прочные изделия (пленки, губки, мембраны) [88], однако они термически нестабильны, что усложняет их стерилизацию. В связи с этим изделия добавляют как дополнительные компоненты в композитные матрицы, а хрупкость уменьшают за счет пластификаторов: глицерола, лауриновой кислоты, молочной кислоты, полиэтиленгликоля [89].

**Бактериальные полиоксиалканоаты — полиоксибутираты** (полимеры  $\beta$ -оксимасляной кислоты) — класс полиэфиров, которые представляют собой внутриклеточные резервные соединения в гетероцистах у цианобактерий [90]. Полиоксиалканоаты различного химического состава имеют разнообразную структуру и отличаются физико-химическими свойствами. Наиболее часто исследуют гомогенный полиоксибутират и двухкомпонентные сополимеры оксибутирата и оксивалерата, оксибутирата и оксиктаноата. Их физико-химические свойства сходны с полиэтиленом и полипропиленом, при этом они биосовместимы и биodeградируемы. Продукты разложения этих полиэфиров (углекислый газ и вода) нетоксичны.

Они обладают устойчивостью к ультрафиолетовому излучению, высокими газобарьерными качествами, хорошей водостойкостью, теплоустойчивостью. В зависимости от состава сополимеров полиоксиалканоатов меняются их механические свойства [91]. В области тканевой инженерии полиоксибутираты используют, например, для изготовления пористых биорезорбируемых матриц [92].

**Альгиновая кислота** представляет собой полисахарид, который получают из красных водорослей (*Laminaria japonica* Aresch). Альгиновая кислота — это вязкое вещество, не растворимое в большинстве органических растворителей; одна ее часть способна адсорбировать 300 массовых частей воды, поэтому она является хорошим загустителем [93]. Альгинат натрия, альгинат калия, альгинат кальция используют как пищевые добавки. В стоматологии альгинаты применяют в качестве эластичного слепочного материала. Неорганические наполнители (оксид цинка, тальк) составляют основную массу альгинатного порошка и влияют на вязкость материала и его прочность после затвердевания [87, 94]. Альгинаты используют в системах доставки биологически активных веществ [95], а также как инъекционные средства для доставки клеток и различных факторов, поскольку они позволяют формировать гидрогели при взаимодействии с двухвалентными и трехвалентными катионами ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ) [96, 97]. Альгинаты не содержат RGD-последовательность, поэтому адгезия клеток на их поверхность довольно низкая. Тем не менее пористые губки из альгината способствуют восстановлению нервной проводимости у крыс [96], а альгинатные матрицы — регенерации хрящевой ткани [98].

Каждый из полимеров далеко не универсален в применении. Например, полилактиды, полиамиды и полиуретаны хорошо подходят для изготовления протезов, медицинских принадлежностей; хитозан и коллаген наиболее пригодны в качестве дополнительных компонентов при формировании тканеинженерных конструкций; поликапролактон и полигликолевая кислота — для изготовления качественных шовных нитей.

Ценность фиброина шелка и спидроина заключается в том, что они обладают свойствами, позволяющими им быть практически универсальными материалами для использования в тканевой инженерии, фармации, медицине независимо от вида конструкций (матрицы [99], пленки [100], шовные нити, микросферы, микроносители лекарственных препаратов). В отличие от большинства полимеров синтетического и природного происхождения изделия из фиброина шелка и спидроина имеют высокую нанопористость, столь важную для биологических свойств конечного изделия [101]. Они одновременно и биосовместимы, и биodeградируемы, обладают прочностью, оставаясь при этом относительно легкими в работе, не требуют добавления большого количества дополнительных материалов, чтобы создать изделие нужного формата.

В отличие от полиоксibuтирата и полигликолевой кислоты, которые в организме распадаются до углекислого газа и воды, продуктами распада фиброина шелка и спидроина являются аминокислоты, выступающие в качестве дополнительного строительного материала при регенерации ткани. Оба биополимера способствуют адгезии и пролиферации клеток на своей поверхности, чего не могут многие полимеры (например, альгинат). Модификация фиброина шелка и спидроина дополнительными химическими структурами усиливает эффективность их использования [102].

### Технологии изготовления биополимерных конструкций

Существуют разные технологии изготовления трехмерных матриц, каждая из которых имеет как достоинства, так и недостатки. Методика выбирается в зависимости от свойств материала, желаемых итоговых характеристик готовой конструкции и области ее применения.

**Метод выщелачивания.** В его основе лежит принцип выщелачивания, при котором из системы происходит вымывание одной из составляющих — порообразователя, за счет чего и формируется пористая трехмерная структура матрикса. В качестве порообразователя могут быть использованы как жидкие частицы, так и порошкообразные материалы: воск, соли (например, хлорид натрия, карбонат аммония) [103], сахар [8]; размер частиц порообразователя влияет на итоговый размер пор конструкции. К основным преимуществам метода можно отнести простоту, универсальность и удобство в контроле размера и формы пор. Недостатком является ограниченность толщины конечной конструкции (до 3 мм), а также трудность формирования матриц с гарантированной взаимосвязанностью пор [104].

**Метод сублимации.** Он заключается в том, что полимер растворяют в растворителе до образования требуемой концентрации, после чего раствор замораживают и удаляют растворитель путем лиофилизации под высоким вакуумом. При этом формируется высокопористый матрикс, обладающий внутренней взаимосвязанностью пор [105]. Размер пор можно регулировать скоростью замораживания и уровня pH; более быстрая скорость замораживания позволяет получать поры меньшего размера [106]. Одним из основных преимуществ метода является то, что он не требует ни высокой температуры, ни отдельного этапа выщелачивания. К его недостаткам следует отнести длительность процесса, а также получение пор только небольшого размера. Эта техника применима к различного рода полимерам, включая фиброин шелка, полигликолевую кислоту, полилактид [107].

**Метод электроспиннинга.** В его основе лежит процесс электроспиннинга, при котором происходит подача раствора полимера с одинаковой скоростью через иглу малого диаметра в пространство с

электростатическим полем высокого напряжения, в результате чего на металлическом коллекторе формируются нити диаметром менее 1 мкм. К основным достоинствам метода относят возможность изготавливать матрицы с высоким соотношением поверхности и объема, ориентировать нити полимера, регулировать пористость матриц и толщину волокон. Для данного метода подходит более двухсот полимеров, включая фиброин шелка [108], коллаген [109], хитозан [110], желатин [111].

**Метод биопринтирования.** В его основе лежит технология струйной печати, которая позволяет формировать 3D-структуры с заранее указанной морфологией. «Биочернилами» выступают живые клетки, белки, а в качестве «биобумаги» используют полимерную подложку, обеспечивающую существование сформированных структур и их стабилизацию [112]. В конце процесса применяется инкубатор, где при наличии определенных условий матрица фиксируется или происходит прорастание и пролиферация клеток, если было проведено биопринтирование клеточных структур. Метод биопринтирования не имеет недостатков в отличие от традиционных методов формирования матриц, поскольку способен непосредственно задавать итоговую структуру изделия. Точность метода и его высокая воспроизводимость позволяют осуществлять послойную печать, а также наносить на получаемую конструкцию факторы роста и цитокины, которые нужны для адгезии клеток и их дифференцировки [113]. Таким образом, биопринтирование — наиболее современный, бесконтактный, неструктурный метод, используемый для принтирования двухмерных и трехмерных структур послойно [114, 115].

### Использование фиброина шелка и спидроина в тканевой инженерии и регенеративной медицине

Из регенерированного фиброина шелка *Bombux mori* создают прочные и эластичные пленки, трехмерные матрицы и трубки. Исследования *in vitro* показали, что такие конструкции поддерживают адгезию и пролиферацию эукариотических клеток и их структура благоприятствует равномерному распределению пролиферирующих клеток как на поверхности, так и в толще матрикса. Эксперименты *in vivo* с подкожной имплантацией матриц мышам продемонстрировали хорошую биodeградируемость конструкций из фиброина шелка и их способность подвергаться неоваскуляризации [116]. Матрицы из рекомбинантного спидроина также показали свою совместимость с культурой клеток, обеспечили их адгезию и пролиферацию в течение долгого времени и обладали низкой иммуногенной активностью [117].

**Регенерация костной ткани.** Для устранения дефектов костной ткани A. Varkey с соавт. [118] изготовили три вида матриц из фиброина шелка: с помощью электроспиннинга — нановолоконные матрицы,

методом лиофилизации — губки и пористые пленки, которые изучались в качестве подложки для адгезии и пролиферации клеток остеокарциномы MG-63. Результаты исследований показали, что все три вида биоконструкций биосовместимы и способствуют прикреплению клеток.

S. Sangkerat с соавт. [119] создали матриксы, модифицированные коллагеном и фрагментами децеллюляризованной ткани, методом замораживания–оттаивания. В ходе экспериментов выявлено, что такие матриксы являются перспективными для инженерии костной ткани и лечения расщелины неба («волчьей пасти»).

Матриксы из фиброина шелка с гидроксиапатитом применяли для адгезии и пролиферации остеокарциномы MG-63. W. Shao с соавт. [120] показали, что эти наноструктурированные конструкции обладают превосходными биомиметическими и механическими свойствами, поддерживают адгезию и пролиферацию клеток, функционально способствуют биоминерализации. Фиброиновые биомиметические матриксы с добавлением гидроксиапатита, состоящие из трех слоев: первого — хрящевого с продольно ориентированной структурой микротрубочек, второго — костного слоя с 3D-пористой структурой, промежуточного — с плотной структурой, могут эффективно поддерживать регенерацию хрящевой и костной ткани *in vivo* [121]. Эксперименты *in vitro* с композитными матриксами из фиброина шелка (40%) и хитозана (60%) с внутренней трехмерной пористостью более 90% показали, что такие конструкции поддерживают быструю адгезию, рост и пролиферацию клеток MG-63, обладают хорошей биосовместимостью и замедленной биодеградацией, помогают клеткам выделять цитокины для построения внеклеточного матрикса [122]. При *in vitro* добавлении желатина и гидроксиапатита к матриксам из фиброина шелка увеличивается адгезия мышечных эмбриональных фибробластов и их пролиферация в 3D-культуре, поэтому многокомпонентные конструкции представляются перспективными в области регенеративной медицины, особенно при восстановлении костной ткани [123]. Матриксы из фиброина шелка и хитозана с добавлением сосудистого эндотелиального фактора роста способствуют пролиферации и активности эмбриональных человеческих остеобластов [124]. Волокнистые гидрогели из фиброина шелка и альгината натрия позволяют получить кристаллы гидроксиапатита нужной морфологии для восстановления костной ткани [125].

Мембраны из биологически активного стекла и фиброина шелка способны поддерживать пролиферацию клеток и влиять на одонтобластическую дифференциацию зубных стволовых клеток пульпы человека. Такие мембраны могут использоваться в качестве тканеинженерного пленочного материала для регенерации пульпа–дентин комплекса [126].

Матриксы из стронций-легированного полифосфата кальция с добавлением допамина и фиброина шел-

ка, имплантированные *in vivo*, эффективно ускоряют процесс минерализации и регенерации новой костной ткани у кроликов. Иммуногистохимическое исследование показало, что матриксы также усиливают секрецию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и главного фактора роста фибробластов (bFGF) [127].

Пористые матриксы из фиброина шелка формируют подходящую нишу, необходимую для поддержания длительного выживания и функционирования имплантированных стволовых клеток костного мозга крыс для регенерации костной ткани *in vitro* и *in vivo* [128].

Минерализованный фиброин шелка напоминает естественную костную структуру, клеточные и минеральные слои фиброина являются критически важными для регенерации костной ткани. В исследованиях отмечается, что способность содействовать спондиллодезу усиливается, когда минерализованный фиброин шелка засевают стромальными клетками костного мозга [129].

**Восстановление хрящевой ткани.** Матриксы из фиброина шелка, содержащие механический фактор роста, трансформирующий фактор роста и стволовые клетки, способствуют регенерации суставного хряща *in situ* [130].

В исследовании V. Vishwanath с соавт. [131] показано, что наиболее подходящими для восстановления ткани являются матриксы из фиброина шелка с добавлением хитозана в сочетании 4:1. Матриксы с таким соотношением компонентов в наибольшей степени способствуют адгезии, выживаемости и пролиферации клеточных культур (на примере мезенхимальных стволовых клеток, полученных из пуповинной крови), а оценка секреции гликозаминогликанов на матриксах свидетельствует об их способности ускорять регенерацию хрящевой ткани. Композитные матриксы из коллагена и фиброина шелка в соотношении 7:3 с добавлением микросфер из полилактида-ко-гликолида способствуют восстановлению суставного хряща и интеграции регенерирующей и окружающей ее хрящевой ткани. Эффективность этих конструкций подтверждена в экспериментах *in vitro* и *in vivo* при имплантации матриксов в искусственно созданный дефект суставного хряща у кроликов [132].

**Ранозаживление.** В экспериментах *in vitro* и *in vivo* с крысами продемонстрировано, что матриксы из фиброина шелка с добавлением желатиновых микросфер с инкапсулированным антибиотиком гентамицином обладают антимикробным действием, подавляют золотистый стафилококк, кишечную и синегнойную палочки. Такие конструкции способствуют постепенному высвобождению лекарственного вещества, хорошему ранозаживлению и потому эффективны для лечения глубоких инфицированных и тяжелых ожогов [133]. В экспериментах *in vivo* на крысах показано, что наноматриксы из фиброина шелка способствуют ускоренному заживлению ожоговой раны и быстрой эпителизации. Это подтверждено

гистологическими исследованиями образцов ткани [134]. Патчи из фиброина шелка, полученные методом электроспиннинга и витализированные мезенхимальными стромальными клетками, взятыми из жировой ткани человека, использовали для регенерации кожи у мышей, больных диабетом. В *in vivo* исследованиях установлено, что невитализированные патчи не менее эффективны для лечения диабетических ран, чем патчи с мезенхимальными клетками. Действие обеих патчей одинаково и включает главным образом стимулирование ангиогенеза и синтез коллагена. В то же время отмечается, что отсутствие клеток на фиброиновых патчах имеет значительные преимущества, так как снижает риск передачи мутантных клеток и стимулицию иммунной системы. Кроме того, невитализированные патчи могут быть подготовлены заранее и длительно храниться. Это — важный шаг на пути успешного лечения язв у больных сахарным диабетом [135].

Мезенхимальные стволовые клетки человека, культивированные на гидрогеле из фиброина шелка с переменной жесткостью и фактором роста с целью их дифференциации в зрелые гладкомышечные клетки, доказали эффективность применения фиброина шелка для изготовления тканеспецифичных матриц для клеток [136].

Высокопористые пленки из фиброина шелка, сформированные методом электроспиннинга, обеспечивают доставку кислорода к ране, поэтому их используют в качестве перевязочного материала. Средний диаметр нановолокон влияет на механические и биологические свойства изделий, что позволяет получать конструкции с необходимыми характеристиками [137].

**Реконструкция связок.** Матрицы из волокон регенерированного шелка с иерархической структурой, включающей нанопфибриллы, микроволокна и пучки волокон, обладают механическими характеристиками, совпадающими со свойствами передней крестообразной связки. Тесты на биодegradацию показали, что матрицы теряют 8% массы после погружения в натрий-фосфатный буфер через 60 дней и 62% массы — при погружении в раствор протеазы актиномицетов на 48 ч. Авторы [138] сделали вывод, что благодаря иерархической структуре, механическим свойствам, высокой биосовместимости и биодegradуемости, матрицы из регенерированного шелка могут применяться для тканевой инженерии связок.

При покрытии искусственных связок из ПЭТФ фиброином шелка уменьшается их гидрофобность и повышается биосовместимость. Эксперименты *in vitro* показали, что на поверхности этих конструкций улучшается адгезия и пролиферация мышечных фибробластов по сравнению со связками, не модифицированными биополимером [139].

Матрицы, изготовленные из коллагеновых губок и фиброиновой вязаной сетки, способны имитировать компоненты связок. Эксперименты *in vivo* на кроликах показали, что данные матрицы подходят для рекон-

струкции передней крестообразной связки у животных, в связи с чем обладают потенциалом для клинического применения [140].

Биодegradуемые гибридные нано- и микрометрические, состоящие из скрученных нитей фиброина шелка, покрытых нановолокнами поли-3-гидроксibuтирата или поликапролактона, способствуют адгезии и пролиферации мышечных фибробластов *in vitro*. Механические свойства гибридной структуры могут быть оптимизированы для регенерации различных естественных связок и сухожилий путем изменения количества скрученных нитей фиброина [141].

**Регенерация кровеносных сосудов.** В экспериментах [142] показано, что фиброиновые матрицы с добавлением гепарина ингибируют пролиферацию гладкомышечных клеток человека, улучшают гемосовместимость, высвобождая гепарин в течение 7 дней, а также способствуют образованию новых сосудов при подкожной имплантации у крыс. Эти матрицы могут быть использованы в качестве потенциальных сосудистых имплантатов, поскольку обладают высокой степенью пористости (92%), хорошей совместимостью с кровью и легкостью изготовления.

Трубчатые матрицы из фиброина шелка, сформированные методом электроспиннинга, могут применяться для регенерации кровеносных сосудов малого диаметра. Эксперименты *in vitro* и *in vivo* на крысах показали, что эти матрицы имеют подходящие морфологические и механические свойства, они биодegradуемы и биосовместимы [143].

Сочетание пористых шелковых матриц, содержащих в структуре каналы диаметром 254 мкм, и витализации эндотелиальными клетками пупочной вены человека (HUVCEs) способствует быстрой васкуляризации и интеграции в условиях *in vivo*. Полые каналы в матрицах улучшают пролиферацию эндотелиальных клеток пупочной вены человека и формирование капиллярноподобных трубок во время предварительной инкубации *in vitro* [144].

Мультифункциональный биоматериал из фиброина шелка с добавлением гепарина приводит к контролируемому высвобождению фактора роста эндотелия сосудов *in vitro*. Высвобожденный фактор функционально активен и способствует росту эндотелиальных клеток человека. Добавление низкомолекулярного гепарина к шелку повышает его гемосовместимость [145].

Двухслойные сосудистые матрицы малого диаметра из рекомбинантного паучьего шелка, поликапролактона, желатина и хитозана биосовместимы и биодegradуемы. Они имеют подходящую гидрофильность и гемосовместимость, способствуют адгезии и пролиферации мезенхимальных стволовых клеток в условиях *in vitro*, а также при подкожной имплантации *in vivo* [146].

Искусственные протезы сосудов из фиброина шелка изучали в условиях *in vitro* и *in vivo* на крысах для оценки их острой и подострой гемосовместимости и сравнивали с коммерчески доступными транспланта-

тами из ПЭТФ. Результаты экспериментов подтвердили возможность использования фиброина шелка для регенерации сосудов [147].

Пленки и матриксы из фиброина шелка с добавлением N,N'-метиленбисакриламида нерастворимы в воде и кислотах, обладают пористостью, обеспечивающей хорошие условия для культивирования клеток. Такие конструкции более совместимы с кровью по сравнению с пленками и матриксами из чистого фиброина. Они препятствуют свертыванию крови и адгезии тромбоцитов, поэтому являются идеальными кандидатами для применения в сосудистой хирургии [148].

**Восстановление желудочно-кишечного и мочевого выделительного трактов.** Двухслойные матриксы из фиброина шелка поддерживают адгезию и пролиферацию эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта и гладкомышечных клеток человека, что подтверждено в экспериментах *in vitro*. Кроме того, матриксы способствуют дифференцировке первичных эпителиальных клеток пищевода человека в направлении супрабазального и поверхностного фенотипов. Планируется проведение экспериментов *in vivo* с применением этих матриксов для восстановления органов желудочно-кишечного тракта [149]. Покрытые фиброином шелка матриксы из полиэфируретана с наличием микроканалов в структуре и добавлением фактора роста эндотелия сосудов в значительной степени способствуют регенерации мышц пищевода, формируя нормальную гистологическую структуру [150].

Матриксы из фиброина шелка протестированы на экспериментальных моделях животных как средства для восстановления мочевого пузыря и уретры. Результаты показали высокую биосовместимость, биоразлагаемость и хорошую регенерацию гладких мышц и уретры. Эти матриксы обладают необходимыми биомеханическими свойствами — прочностью и эластичностью [151].

Сетки из шелка паутины, полученные от *Nephila edulis*, поддерживают адгезию, выживаемость и рост первичных уретелиальных клеток человека без существенного изменения их свойств, что делает этот материал подходящим к испытанию его в доклинических исследованиях для реконструкции мочевого пузыря [152].

Пленки из фиброина шелка и кератина проявляют улучшенные механические свойства при добавлении к ним желатина. После смешивания с пероксидом кальция пленки создают высокий уровень кислорода на протяжении двух недель и способствуют усиленному клеточному росту. Такой биоматериал обладает антибактериальными свойствами. Эксперименты на животных показали целесообразность его применения для восстановления дефектов мочевого выделительного тракта [153].

**Регенерация нервной ткани.** Волокна из регенерированного фиброина шелка с добавлением оксида графена являются биосовместимыми и обладают ме-

ханическими свойствами, которые позволяют использовать их при изготовлении биоинженерных матриксов для восстановления костей, роста и регенерации нервной ткани. Такие матриксы могут служить электродным материалом для хранения энергии и быть биосовместимым субстратом для «электронной кожи» [154].

На основе матрикса из фиброина шелка и коллагена создан тканеинженерный нервный канал, на котором в качестве посевного клеточного материала совместно культивировали шванновские клетки и стволовые клетки жировой ткани. В экспериментах *in vivo* на крысах установлено, что такие конструкции улучшают регенеративную среду и ускоряют регенерацию периферических нервов [155].

Биоинженерная ткань из фиброина шелка и коллагена, представляющая собой пористую фиброиную губку с предварительно посеянными на нее нейронами головного мозга крысы, погруженными в мягкую коллагеновую матрицу, способна имитировать нативную нервную ткань [156].

Биоинженерные нервные каналы из фиброина шелка и полилактида-ко-гликолида, полученные методом электроспиннинга, обладают высокой пористостью, гидрофильностью, жесткостью на растяжение и биосовместимостью. При *in vitro* и *in vivo* подкожной имплантации у кроликов происходит восстановление периферического нерва, что позволяет применять каналы в клинике [157].

Волокнистые мембраны из полилактида-ко-гликолида и фиброина шелка обладают высокой гидрофильностью. Натяжение нитей в таких конструкциях можно регулировать путем изменения процентного содержания белка. Лабораторные тесты показали, что при добавлении фиброина в изделие из полилактида-ко-гликолида повышается пролиферация нервных клеток. Мембраны, сформированные в нервный канал и имплантированные в дефект седалищного нерва мыши, способствовали более организованной и зрелой регенерации нерва [157].

## Биодеградируемые носители клеточных культур и лекарственных веществ

**Клеточные микроносители.** Микроносители из рекомбинантного спидроина со сложной топографией поверхности обеспечивают эффективное культивирование первичных иммортализованных фибробластов. Эксперименты *in vivo* показали, что подкожные инъекции суспензии микрогеля в область кожной раны не приводят к развитию острого воспаления, при этом ускоряют регенерацию тканей у мышей, стимулируют нейрогенез и ангиогенез [158]. В целях повышения адгезии микроносители из водного раствора фиброина соединяют с желатином, гидрофильным биополимером с интегрин-распознающей RGD-последовательностью. Полученные биорезорбируемые микроносители поддерживают адгезию и пролиферацию 3T3-фибробластов мыши [159].

Композитные мембраны из фиброина шелка с добавлением ацетамида обладают хорошей совместимостью с клетками, необходимыми механическими свойствами, стабильной долговременной оптической прозрачностью и способствуют пролиферации роговичных стромальных клеток *in vitro* [160].

В условиях *in vitro* волокнистые сетки из рекомбинантного спидроина подходят для адгезии и роста кардиомиоцитов без дополнительного покрытия адгезивными факторами (например, фибронектином) [161].

**Носители лекарственных веществ.** Губки из фиброина шелка с добавлением желатина являются потенциальными носителями куркумина и докозагексаеновой кислоты, которые, высвобождаясь в организме, обеспечивают противоопухолевый эффект [162]. Биосовместимые и биodeградируемые микрокапсулы из фиброина шелка с добавлением поликапролактона, благодаря легко регулируемым размерам и проницаемости, представляют собой перспективные конструкции для использования в качестве интеллектуальных систем доставки лекарственных средств [163].

Микросферы из фиброина шелка — потенциальные объекты для доставки и высвобождения препаратов в организме [164]. Их морфология, размер и полидисперсность регулируются путем изменения молекулярной массы и концентрации фиброина шелка, а также ионной силы и pH буферного раствора. Многофункциональные микросферы из фиброина шелка с добавлением оксида железа эффективны в качестве носителей доксорубина гидрохлорида (традиционного противоракового препарата) [165].

Монослойные и многослойные пленки из спидроина используют в фармацевтических и медицинских целях как матрицы для доставки лекарственных веществ с низкой и с высокой молекулярной массой, особенно в тех случаях, когда механическая прочность элюирующей матрицы имеет большее значение [166]. Биodeградируемые стержни из фиброина шелка являются перспективными биосовместимыми конструкциями для хранения и доставки анастрозола при лечении рака молочной железы. Эксперименты *in vitro* и *in vivo* показали, что они способствуют равномерному замедленному высвобождению препарата, при этом скорость зависит от размеров конструкции [167]. Наночастицы из фиброина шелка, в которые инкапсулирован антибактериальный препарат гентамицин, нанесенные на поверхность титана с целью достичь непрерывного высвобождения лекарственного препарата в условиях *in vitro*, повышают адгезию остеобластов, их пролиферацию и дифференцировку по сравнению с титановой поверхностью без покрытия. Такая технология обеспечивает более эффективный подход к лечению в области ортопедии и стоматологии [168]. Пористые матрицы из фиброина шелка и поливинилового спирта можно использовать в качестве раневого перевязочного материала благодаря низкой цитотоксичности и подходящему высвобождению загруженного в них потенциального лекарственного средства куркумина [169].

Микрочастицы фиброина шелка, сформированные распылением–высушиванием или распылением–лиофилизацией, подходят для направленной доставки противоракового препарата Цисплатина путем ингаляции в легкие. Сшивание фиброина с генипином модифицирует высвобождение лекарственного средства, делая его более эффективным. Способность частиц образовывать аэрозоли позволяет проводить адекватную дисперсию и доставку вещества вплоть до нижних дыхательных путей [170].

Сферы из биоинженерного паучьего шелка используют в качестве средства для направленной противораковой терапии [171]. Они обеспечивают pH-зависимое высвобождение доксорубина, не проявляют цитотоксического действия до загрузки лекарственного препарата.

В условиях *in vivo* при введении непосредственно в мембрану круглого окна уха морских свинок гидрогель из фиброина шелка и полиэтиленгликоля с загруженным в него дексаметазоном проявил себя как эффективное и безопасное средство для доставки и пролонгированного высвобождения глюкокортикоида во внутреннем ухе [172].

Раствор фиброина шелка с добавлением рибофлавина (в качестве фотоинициатора для ковалентного сшивания) образует прозрачный эластичный гидрогель, который может использоваться для изменения формы роговицы с целью восстановления остроты зрения [173].

Наносферы, состоящие из фиброина шелка и наноалмазов, применяют в качестве носителей лекарственных препаратов (например, доксорубина). Высвобождение вещества контролируется с помощью измерения флуоресценции наноалмазов внутри сфер. Такие наносферы являются хорошими наноконструктивными платформами для диагностических и терапевтических целей [174].

## Заключение

Фиброин шелка и спидроин применяют в области биоинженерии и регенеративной медицины в качестве материалов для изготовления трехмерных матриц, способствующих восстановлению поврежденных органов и тканей, для создания биodeградируемых носителей клеток и лекарственных препаратов. Они обладают уникальными свойствами, поэтому конструкции из этих двух биополимеров продолжают активно разрабатываться и изучаться.

**Финансирование исследования.** Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект №15-15-00173).

**Конфликт интересов.** У авторов нет конфликта интересов.

## Литература/References

1. Jeffries E.M., Allen R.A., Gao J., Pesce M., Wang Y. Highly elastic and suturable electrospun poly(glycerol

- sebacate) fibrous scaffolds. *Acta Biomater* 2015; 18: 30–39, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.02.005>.
2. Lace R., Murray-Dunning C., Williams R. Biomaterials for ocular reconstruction. *J Mater Sci* 2015; 50(4): 1523–1534, <https://doi.org/10.1007/s10853-014-8707-0>.
  3. Song Z., Shi B., Ding J., Zhuang X., Zhang X., Fu C., Chen X. Prevention of postoperative tendon adhesion by biodegradable electrospun membrane of poly(lactide-co-glycolide). *Chinese Journal of Polymer Science* 2015; 33(4): 587–596, <https://doi.org/10.1007/s10118-015-1611-5>.
  4. Wadbua P., Promdonkoy B., Maensiri S., Siri S. Different properties of electrospun fibrous scaffolds of separated heavy-chain and light-chain fibroins of *Bombyx mori*. *Int J Biol Macromol* 2010; 46(5): 493–501, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.03.007>.
  5. Ho W. Single-molecule chemistry. *J Chem Phys* 2002; 117(24): 11033–11061, <https://doi.org/10.1063/1.1521153>.
  6. Tanaka K., Inoue S., Mizuno S. Hydrophobic interaction of P25, containing Asn-linked oligosaccharide chains, with the H-L complex of silk fibroin produced by *Bombyx mori*. *Insect Biochem Mol Biol* 1999; 29(3): 269–276, [https://doi.org/10.1016/s0965-1748\(98\)00135-0](https://doi.org/10.1016/s0965-1748(98)00135-0).
  7. Inoue S., Tanaka K., Arisaka F., Kimura S., Ohtomo K., Mizuno S. Silk fibroin of *Bombyx mori* is secreted, assembling a high molecular mass elementary unit consisting of H-chain, L-chain, and P25, with a 6:6:1 molar ratio. *J Biol Chem* 2000; 275(51): 40517–40528, <https://doi.org/10.1074/jbc.m006897200>.
  8. Vepari C., Kaplan D.L. Silk as a biomaterial. *Prog Polym Sci* 2007; 32(8–9): 991–1007, <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.013>.
  9. Lucas F., Shaw J.T., Smith S.G. The amino acid sequence in a fraction of the fibroin of *Bombyx mori*. *Biochem J* 1957; 66(3): 468–479, <https://doi.org/10.1042/bj0660468>.
  10. Gholami A., Tavanai H., Moradi A.R. Production of fibroin nanopowder through electrospraying. *J Nanopart Res* 2011; 13(5): 2089–2098, <https://doi.org/10.1007/s11051-010-9965-7>.
  11. Scherer M.P., Frank G., Gummer A.W. Experimental determination of the mechanical impedance of atomic force microscopy cantilevers in fluids up to 70 kHz. *J Appl Phys* 2000; 88(5): 2912–2920, <https://doi.org/10.1063/1.1287522>.
  12. Dong Y., Dai F., Ren Y., Liu H., Chen L., Yang P., Liu Y., Li X., Wang W., Xiang H. Comparative transcriptome analyses on silk glands of six silkmoths imply the genetic basis of silk structure and coloration. *BMC Genomics* 2015; 16(1), <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1420-9>.
  13. Kim E.Y., Tripathy N., Park J.Y., Lee S.E., Joo C.-K., Khang G. Silk fibroin film as an efficient carrier for corneal endothelial cells regeneration. *Macromolecular Research* 2015; 23(2): 189–195, <https://doi.org/10.1007/s13233-015-3027-z>.
  14. Smith R.K., Lewis P.A., Weiss P.S. Patterning self-assembled monolayers. *Progress in Surface Science* 2004; 75(1–2): 1–68, <https://doi.org/10.1016/j.progsurf.2003.12.001>.
  15. Sun K., Li H., Li R., Nian Z., Li D., Xu C. Silk fibroin/collagen and silk fibroin/chitosan blended three-dimensional scaffolds for tissue engineering. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 2015; 25(2): 243–249, <https://doi.org/10.1007/s00590-014-1515-z>.
  16. Nakazawa Y., Sato M., Takahashi R., Aytemiz D., Takabayashi C., Tamura T., Enomoto S., Sata M., Asakura T. Development of small-diameter vascular grafts based on silk fibroin fibers from *Bombyx mori* for vascular regeneration. *J Biomater Sci Polym Ed* 2011; 22(1–3): 195–206, <https://doi.org/10.1163/092050609x12586381656530>.
  17. Lian X.-J., Wang S., Zhu H.-S. Surface properties and cytocompatibility of silk fibroin films cast from aqueous solutions in different concentrations. *Front Mater Sci China* 2010; 4(1): 57–63, <https://doi.org/10.1007/s11706-010-0013-4>.
  18. Wang P., Pi B., Wang J.-N., Zhu X.-S., Yang H.-L. Preparation and properties of calcium sulfate bone cement incorporated with silk fibroin and Sema3A-loaded chitosan microspheres. *Front Mater Sci* 2015; 9(1): 51–65, <https://doi.org/10.1007/s11706-015-0278-8>.
  19. Wenk E., Wandrey A.J., Merkle H.P., Meinel L. Silk fibroin spheres as a platform for controlled drug delivery. *J Control Release* 2008; 132(1): 26–34, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.08.005>.
  20. Abdel-Fattah W.I., Atwa N., Ali G.W. Influence of the protocol of fibroin extraction on the antibiotic activities of the constructed composites. *Prog Biomater* 2015; 4(2–4): 77–88, <https://doi.org/10.1007/s40204-015-0039-x>.
  21. Shen Z.Q., Hu J., Wang J.L., Zhou Y.X. Comparison of polycaprolactone and starch/polycaprolactone blends as carbon source for biological denitrification. *Int J Environ Sci Technol* 2015; 12(4): 1235–1242, <https://doi.org/10.1007/s13762-013-0481-z>.
  22. Vehoff T., Glisović A., Schollmeyer H., Zippelius A., Salditt T. Mechanical properties of spider dragline silk: humidity, hysteresis, and relaxation. *Biophys J* 2007; 93(12): 4425–4432, <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.099309>.
  23. Kluge J.A., Rabotyagova O., Leisk G.G., Kaplan D.L. Spider silks and their applications. *Trends Biotechnol* 2008; 26(5): 244–251, <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.02.006>.
  24. Sponner A., Schlott B., Vollrath F., Unger E., Grosse F., Weisshart K. Characterization of the protein components of *Nephila clavipes* dragline silk. *Biochemistry* 2005; 44(12): 4727–4736, <https://doi.org/10.1021/bi047671k>.
  25. van Beek J.D., Hess S., Vollrath F., Meier B.H. The molecular structure of spider dragline silk: folding and orientation of the protein backbone. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(16): 10266–10271, <https://doi.org/10.1073/pnas.152162299>.
  26. Rousseau M.-E., Lefèvre T., Pézolet M. Conformation and orientation of proteins in various types of silk fibers produced by *Nephila clavipes* spiders. *Biomacromolecules* 2009; 10(10): 2945–2953, <https://doi.org/10.1021/bm9007919>.
  27. Simmons A.H., Michal C.A., Jelinski L.W. Molecular orientation and two-component nature of the crystalline fraction of spider dragline silk. *Science* 1996; 271(5245): 84–87, <https://doi.org/10.1126/science.271.5245.84>.
  28. Thiel B.L., Guess K.B., Viney C. Non-periodic lattice crystals in the hierarchical microstructure of spider (major ampullate) silk. *Biopolymers* 1997; 41(7): 703–719, [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0282\(199706\)41:7<703::aid-bip1>3.0.co;2-t](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0282(199706)41:7<703::aid-bip1>3.0.co;2-t).
  29. Cunniff P.M., Fossey S.A., Auerbach M.A., Song J.W., Kaplan D.L., Adams W.W., Eby R.K., Mahoney D., Vezie D.L. Mechanical and thermal properties of dragline silk from the spider *Nephila clavipes*. *Polym Adv Technol* 1994; 5(8): 401–410, <https://doi.org/10.1002/pat.1994.220050801>.
  30. Agnarsson I., Boutry C., Blackledge T.A. Spider silk aging: initial improvement in a high performance material followed by slow degradation. *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol* 2008; 309(8): 494–504, <https://doi.org/10.1002/jez.480>.

31. Osaki S., Yamamoto K., Kajiwara A., Murata M. Evaluation of the Resistance of Spider Silk to Ultraviolet Irradiation. *Polymer Journal* 2004; 36(8): 623–627, <https://doi.org/10.1295/polymj.36.623>.
32. Sapede D., Seydel T., Forsyth V.T., Koza M.M., Schweins R., Vollrath F., Riekel C. Nanofibrillar structure and molecular mobility in spider dragline silk. *Macromolecules* 2005; 38(20): 8447–8453, <https://doi.org/10.1021/ma0507995>.
33. Yang J., Barr L.A., Fahnstock S.R., Liu Z.-B. High yield recombinant silk-like protein production in transgenic plants through protein targeting. *Transgenic Res* 2005; 14(3): 313–324, <https://doi.org/10.1007/s11248-005-0272-5>.
34. Scheller J., Henggeler D., Viviani A., Conrad U. Purification of spider silk-elastin from transgenic plants and application for human chondrocyte proliferation. *Transgenic Res* 2004; 13(1): 51–57, <https://doi.org/10.1023/b:trag.0000017175.78809.7a>.
35. Wen H., Lan X., Zhang Y., Zhao T., Wang Y., Kajiwara Z., Nakagaki M. Transgenic silkworms (*Bombyx mori*) produce recombinant spider dragline silk in cocoons. *Mol Biol Rep* 2010; 37(4): 1815–1821, <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9615-2>.
36. Slotta U., Tammer M., Kremer F., Koelsch P., Scheibel T. Structural analysis of spider silk films. *Supramolecular Chemistry* 2006; 18(5): 465–471, <https://doi.org/10.1080/10610270600832042>.
37. Lazaris A., Arcidiacono S., Huang Y., Zhou J.F., Duguay F., Chretien N., Welsh E.A., Soares J.W., Karatzas C.N. Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells. *Science* 2002; 295(5554): 472–476, <https://doi.org/10.1126/science.1065780>.
38. Grip S., Johansson J., Hedhammar M. Engineered disulfides improve mechanical properties of recombinant spider silk. *Protein Sci* 2009; 18(5): 1012–1022, <https://doi.org/10.1002/pro.111>.
39. Rabotyagova O.S., Cebe P., Kaplan D.L. Self-assembly of genetically engineered spider silk block copolymers. *Biomacromolecules* 2009; 10(2): 229–236, <https://doi.org/10.1021/bm800930x>.
40. Hauptmann V., Menzel M., Weichert N., Reimers K., Spohn U., Conrad U. In planta production of ELPylated spider silk-based proteins results in non-cytotoxic biopolymers. *BMC Biotechnol* 2015; 15(1): 9, <https://doi.org/10.1186/s12896-015-0123-2>.
41. Zhu G.C., Gu Y.Q., Geng X., Feng Z.G., Zhang S.W., Ye L., Wang Z.G. Experimental study on the construction of small three-dimensional tissue engineered grafts of electrospun poly-epsilon-caprolactone. *Journal of materials science. J Mater Sci Mater Med* 2015; 26(2): 112, <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5448-9>.
42. Costa M.P., Teixeira N.H., Longo M.V., Gemperli R., Costa H.J. Combined polyglycolic acid tube and autografting versus autografting or polyglycolic acid tube alone. A comparative study of peripheral nerve regeneration in rats. *Acta Cir Bras* 2015; 30(1): 46–53, <https://doi.org/10.1590/s0102-86502015001000006>.
43. Cartmill B.T., Parham D.M., Strike P.W., Griffiths L., Parkin B. How do absorbable sutures absorb? A prospective double-blind randomized clinical study of tissue reaction to polyglactin 910 sutures in human skin. *Orbit* 2014; 33(6): 437–443, <https://doi.org/10.3109/01676830.2014.950285>.
44. Pihlajamäki H., Tynnenen O., Karjalainen P., Rokkanen P. The impact of polyglycolide membrane on a tendon after surgical rejoining. A histological and histomorphometric analysis in rabbits. *J Biomed Mater Res A* 2007; 81(4): 987–993, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31144>.
45. Zhu Y., Liang C., Bo Y., Xu S. Non-isothermal crystallization behavior of compatibilized polypropylene/recycled polyethylene terephthalate blends. *J Therm Anal Calorim* 2015; 119(3): 2005–2013, <https://doi.org/10.1007/s10973-014-4349-3>.
46. Makarawo T.P., Reynolds R.A., Cullen M.L. Polylactide bioabsorbable struts for chest wall reconstruction in a pediatric patient. *Ann Thorac Surg* 2015; 99(2): 689–691, <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2014.03.052>.
47. Water J.J., Bohr A., Boetker J., Aho J., Sandler N., Nielsen H.M., Rantanen J. Three-dimensional printing of drug-eluting implants: preparation of an antimicrobial polylactide feedstock material. *J Pharm Sci* 2015; 104(3): 1099–1107, <https://doi.org/10.1002/jps.24305>.
48. Guo S.Z., Heuzey M.C., Theriault D. Properties of polylactide inks for solvent-cast printing of three-dimensional freeform microstructures. *Langmuir* 2014; 30(4): 1142–1150, <https://doi.org/10.1021/la4036425>.
49. de Mel A., Yap T., Cittadella G., Hale L.R., Maghsoudlou P., de Coppi P., Birchall M.A., Seifalian A.M. A potential platform for developing 3D tubular scaffolds for paediatric organ development. *J Mater Sci Mater Med* 2015; 26(3): 141, <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5477-4>.
50. Alhusein N., Blagbrough I.S., De Bank P.A. Electrospun matrices for localised controlled drug delivery: release of tetracycline hydrochloride from layers of polycaprolactone and poly(ethylene-co-vinyl acetate). *Drug Deliv Transl Res* 2012; 2(6): 477–488, <https://doi.org/10.1007/s13346-012-0106-y>.
51. Osten K.M., Aluthge D.C., Mehrkhodavandi P. The effect of steric changes on the isoselectivity of dinuclear indium catalysts for lactide polymerization. *Dalton Trans* 2015; 44(13): 6126–6139, <https://doi.org/10.1039/c5dt00222b>.
52. Kim J.A., Van Abel D. Neocollagenesis in human tissue injected with a polycaprolactone-based dermal filler. *J Cosmet Laser Ther* 2015; 17(2): 99–101, <https://doi.org/10.3109/14764172.2014.968586>.
53. Xu Z., Zhu J., Liao X., Ni H. Thermal behavior of poly(ethylene terephthalate)/SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> nano composites prepared via in situ polymerization. *J Iran Chem Soc* 2014; 12(5): 765–770, <https://doi.org/10.1007/s13738-014-0536-1>.
54. Mallick B. Analysis of strain-induced crystallinity in neutron-irradiated amorphous PET fiber. *Appl Phys A* 2015; 119(2): 653–657, <https://doi.org/10.1007/s00339-015-9009-3>.
55. Ma Z., Kotaki M., Yong T., He W., Ramakrishna S. Surface engineering of electrospun polyethylene terephthalate (PET) nanofibers towards development of a new material for blood vessel engineering. *Biomaterials* 2005; 26(15): 2527–2536, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.07.026>.
56. Huang Z., Bi L., Zhang Z., Han Y. Effects of dimethylolpropionic acid modification on the characteristics of polyethylene terephthalate fibers. *Mol Med Rep* 2012; 6(4): 709–715, <https://doi.org/10.3892/mmr.2012.1012>.
57. Ebadi H., Mehdipour-Ataei S. Heat-resistant, pyridine-based polyamides containing ether and ester units with improved solubility. *Chinese Journal of Polymer Science* 2010; 28(1): 29–37, <https://doi.org/10.1007/s10118-010-8212-0>.
58. Surguchenko V.A., Ponomareva A.S., Kirsanova L.A., Skaleckij N.N., Sevastianov V.I. The cell-engineered construct of cartilage on the basis of biopolymer hydrogel matrix and

- human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells (in vitro study). *J Biomed Mater Res A* 2015; 103(2): 463–470, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35197>.
59. Sevastianov V.I., Dukhina G.A., Grigoriev A.M., Perova N.V., Kirsanova L.A., Skaletskiy N.N., Akhaladze D.G., Gautier S.V. The functional effectiveness of a cell-engineered construct for the regeneration of articular cartilage. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs* 2015; 17(1): 86–96, <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2015-1-86-96>.
60. Srisuwan Y., Srihanam P., Baimark Y. Preparation of silk fibroin microspheres and its application to protein adsorption. *Journal of Macromolecular Science, Part A* 2009; 46(5): 521–525, <https://doi.org/10.1080/10601320902797780>.
61. Baimark Y., Srihanam P. Effect of methanol treatment on regenerated silk fibroin microparticles prepared by the emulsification-diffusion technique. *Journal of Applied Sciences* 2009; 9(21): 3876–3881, <https://doi.org/10.3923/jas.2009.3876.3881>.
62. Medalia O., Weber I., Frangakis A.S., Nicastro D., Gerisch G., Baumeister W. Macromolecular architecture in eukaryotic cells visualized by cryoelectron tomography. *Science* 2002; 298(5596): 1209–1213, <https://doi.org/10.1126/science.1076184>.
63. Jalilian S., Yeganeh H. Preparation and properties of biodegradable polyurethane networks from carbonated soybean oil. *Polym Bull* 2015; 72(6): 1379–1392, <https://doi.org/10.1007/s00289-015-1342-3>.
64. Schüttler K.F., Pöttgen S., Getgood A., Rominger M.B., Fuchs-Winkelmann S., Roessler P.P., Ziring E., Efe T. Improvement in outcomes after implantation of a novel polyurethane meniscal scaffold for the treatment of medial meniscus deficiency. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2015; 23(7): 1929–1935, <https://doi.org/10.1007/s00167-014-2977-6>.
65. Breslauer D.N., Muller S.J., Lee L.P. Generation of monodisperse silk microspheres prepared with microfluidics. *Biomacromolecules* 2010; 11(3): 643–647, <https://doi.org/10.1021/bm901209u>.
66. Skorotetcky M.S., Borshchev O.V., Surin N.M., Meshkov I.B., Muzafarov A.M., Ponomarenko S.A. Novel cross-linked luminescent silicone composites based on reactive nanostructured organosilicon luminophores. *Silicon* 2015; 7(2): 191–200, <https://doi.org/10.1007/s12633-014-9256-5>.
67. Surovikin Y.V., Likholobov V.A. Synthesis and properties of a new generation of carbon materials from the Sibunit family modified with silicon compounds. *Solid Fuel Chem* 2014; 48(6): 335–348, <https://doi.org/10.3103/s036152191406007x>.
68. Bouchet-Marquis C., Hoenger A. Cryo-electron tomography on vitrified sections: a critical analysis of benefits and limitations for structural cell biology. *Micron* 2011; 42(2): 152–162, <https://doi.org/10.1016/j.micron.2010.07.003>.
69. Liu Q., Shao L., Fan H., Long Y., Zhao N., Yang S., Zhang X., Xu J. Characterization of maxillofacial silicone elastomer reinforced with different hollow microspheres. *J Mater Sci* 2015; 50(11): 3976–3983, <https://doi.org/10.1007/s10853-015-8953-9>.
70. Zolotareva N., Semenov V. Microchannel thermocured silicone rubber. *Silicon* 2015; 7(2): 89–93, <https://doi.org/10.1007/s12633-014-9240-0>.
71. Lonys L., Vanhoestenbergh A., Julémont N., Godet S., Delplancke M.P., Mathys P., Nonclercq A. Silicone rubber encapsulation for an endoscopically implantable gastrostimulator. *Med Biol Eng Comput* 2015; 53(4): 319–329, <https://doi.org/10.1007/s11517-014-1236-9>.
72. Dawson J., Schussler O., Al-Madhoun A., Menard C., Ruel M., Skerjanc I.S. Collagen scaffolds with or without the addition of RGD peptides support cardiomyogenesis after aggregation of mouse embryonic stem cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2011; 47(9): 653–664, <https://doi.org/10.1007/s11626-011-9453-0>.
73. Chaisri P., Chingsungnoen A., Siri S. Repetitive Gly-Leu-Lys-Gly-Glu-Asn-Arg-Gly-Asp peptide derived from collagen and fibronectin for improving cell-scaffold interaction. *Appl Biochem Biotechnol* 2015; 175(5): 2489–2500, <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1388-y>.
74. Kretzschmar M., Bieri O., Miska M., Wiewiorski M., Hainc N., Valderrabano V., Studler U. Characterization of the collagen component of cartilage repair tissue of the talus with quantitative MRI: comparison of T2 relaxation time measurements with a diffusion-weighted double-echo steady-state sequence (dwDESS). *Eur Radiol* 2015; 25(4): 980–986, <https://doi.org/10.1007/s00330-014-3490-5>.
75. Mochalov K.E., Efimov A.E., Bobrovsky A., Agapov I.I., Chistyakov A.A., Oleinikov V., Sukhanova A., Nabiev I. Combined scanning probe nanotomography and optical microspectroscopy: a correlative technique for 3D characterization of nanomaterials. *ACS Nano* 2013; 7(10): 8953–8962, <https://doi.org/10.1021/nn403448p>.
76. Togo S., Sato T., Sugiura H., Wang X., Basma H., Nelson A., Liu X., Bargar T.W., Sharp J.G., Rennard S.I. Differentiation of embryonic stem cells into fibroblast-like cells in three-dimensional type I collagen gel cultures. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2011; 47(2): 114–124, <https://doi.org/10.1007/s11626-010-9367-2>.
77. Werkmeister J.A., Edwards G.A., Ramshaw J.A.M. Collagen-based vascular prostheses. In: *Biomaterials engineering and devices: human applications*. Humana Press; 2000; p. 121–136, <http://dx.doi.org/10.1385/1-59259-196-5:121>.
78. Bhat SV. Cardiovascular implants and extracorporeal devices. In: *Biomaterials*. Springer Netherland; 2002; p. 130–162, [https://doi.org/10.1007/978-94-010-0328-5\\_9](https://doi.org/10.1007/978-94-010-0328-5_9).
79. Tran A., Brown S., Rosenberg J., Hovsepian D. Tract embolization with gelatin sponge slurry for prevention of pneumothorax after percutaneous computed tomography-guided lung biopsy. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2014; 37(6): 1546–1553, <https://doi.org/10.1007/s00270-013-0823-8>.
80. Chiu C.-H., Shih H.-C., Jwo S.-C., Hsieh M.-F. Effect of crosslinkers on physical properties of gelatin hollow tubes for tissue engineering application. In: *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering*. September 7–12, 2009, Munich, Germany. Springer Berlin Heidelberg; 2009; p. 293–296, [https://doi.org/10.1007/978-3-642-03900-3\\_85](https://doi.org/10.1007/978-3-642-03900-3_85).
81. Chou K.F., Chiu H.S., Lin J.H., Huang W.Y., Chen P.Y., Xiao W.L., Chen T.K., Wang L.W. The effect of microwave treatment on the drug release property of gelatin microspheres. In: *The 15th International Conference on Biomedical Engineering*. Springer International Publishing; 2014; p. 726–729, [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-02913-9\\_185](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-02913-9_185).
82. Tretenichenko E.M., Datsun V.M., Ignatyuk L.N., Nud'ga L.A. Preparation and properties of chitin and chitosan from a hydroid polyp. *Russ J Appl Chem* 2006; 79(8): 1341–1346, <https://doi.org/10.1134/s1070427206080258>.
83. Kaya M., Akata I., Baran T., Menteş A. Physicochemical properties of chitin and chitosan produced from medicinal

fungus (*Fomitopsis pinicola*). *Food Biophysics* 2015; 10(2): 162–168, <https://doi.org/10.1007/s11483-014-9378-8>.

84. Bashash S., Saeidpourazar R., Jalili N. Development, analysis and control of a high-speed laser-free atomic force microscope. *Rev Sci Instrum* 2010; 81(2): 023707, <https://doi.org/10.1063/1.3302553>.

85. Bhattarai N., Gunn J., Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; 62(1): 83–99, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.019>.

86. Pradines B., Bories C., Vauthier C., Ponchel G., Loiseau P.M., Bouchemal K. Drug-free chitosan coated poly(isobutylcyanoacrylate) nanoparticles are active against *Trichomonas vaginalis* and non-toxic towards pig vaginal mucosa. *Pharm Res* 2015; 32(4): 1229–1236, <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1528-7>.

87. Abou Taleb M.F., Alkahtani A., Mohamed S.K. Radiation synthesis and characterization of sodium alginate/chitosan/hydroxyapatite nanocomposite hydrogels: a drug delivery system for liver cancer. *Polym Bull* 2015; 72(4): 725–742, <https://doi.org/10.1007/s00289-015-1301-z>.

88. Grigoriadi K., Giannakas A., Ladavos A.K., Barkoula N.-M. Interplay between processing and performance in chitosan-based clay nanocomposite films. *Polym Bull* 2015; 72(5): 1145–1161, <https://doi.org/10.1007/s00289-015-1329-0>.

89. Teterina A.Y., Fedotov A.Y., Egorov A.A., Barinov S.M., Komlev V.S. Microstructure formation in porous calcium phosphate-chitosan bone cements. *Inorg Mater* 2015; 51(4): 396–399, <https://doi.org/10.1134/s0020168515040172>.

90. Vioque A. Transformation of cyanobacteria. In: *Transgenic microalgae as green cell factories*. Springer New York; 2007; p. 12–22, [https://doi.org/10.1007/978-0-387-75532-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-0-387-75532-8_2).

91. Beltrán F.J.E., Muñoz-Saldaña J., Torres-Torres D., Torres-Martínez R., Schneider G.A. Atomic force microscopy cantilever simulation by finite element methods for quantitative atomic force acoustic microscopy measurements. *Journal of Materials Research* 2006; 21(12): 3072–3079, <https://doi.org/10.1557/jmr.2006.0379>.

92. He Y.X., Zhang N.N., Li W.F., Jia N., Chen B.Y., Zhou K., Zhang J., Chen Y., Zhou C.Z. N-terminal domain of *Bombyx mori* fibroin mediates the assembly of silk in response to pH decrease. *J Mol Biol* 2012; 418(3–4): 197–207, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2012.02.040>.

93. Al-Zoreky N., Al-Otaibi M. Suitability of camel milk for making yogurt. *Food Sci Biotechnol* 2015; 24(2): 601–606, <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0078-z>.

94. Shibukawa Y., Sato M., Kimura M., Sobhan U., Shimada M., Nishiyama A., Kawaguchi A., Soya M., Kuroda H., Katakura A., Ichinohe T., Tazaki M. Odontoblasts as sensory receptors: transient receptor potential channels, pannexin-1, and ionotropic ATP receptors mediate intercellular odontoblast-neuron signal transduction. *Pflugers Arch* 2015; 467(4): 843–863, <https://doi.org/10.1007/s00424-014-1551-x>.

95. Zhang X.-Z., Tian F.-J., Hou Y.-M., Ou Z.-H. Preparation and in vitro in vivo characterization of polyelectrolyte alginate-chitosan complex based microspheres loaded with verapamil hydrochloride for improved oral drug delivery. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* 2015; 81(3–4): 429–440, <https://doi.org/10.1007/s10847-014-0471-x>.

96. Perets A., Baruch Y., Weisbuch F., Shoshany G., Neufeld G., Cohen S. Enhancing the vascularization of

three-dimensional porous alginate scaffolds by incorporating controlled release basic fibroblast growth factor microspheres. *J Biomed Mater Res A* 2003; 65(4): 489–497, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.10542>.

97. Qiao P.-y., Li F.-f., Dong L.-m., Xu T., Xie Q.-f. Delivering MC3T3-E1 cells into injectable calcium phosphate cement through alginate-chitosan microcapsules for bone tissue engineering. *J Zhejiang Univ Sci B* 2014; 15(4): 382–392, <https://doi.org/10.1631/jzus.b1300132>.

98. Heywood H.K., Sembi P.K., Lee D.A., Bader D.L. Cellular utilization determines viability and matrix distribution profiles in chondrocyte-seeded alginate constructs. *Tissue Eng* 2004; 10(9–10): 1467–1479, <https://doi.org/10.1089/ten.2004.10.1467>.

99. Agapova O.I., Druzhinina T.V., Trofimov K.V., Sevastianov V.I., Agapov I.I. Biodegradable porous scaffolds for the bone tissue regeneration. *Inorg Mater Appl Res* 2016; 7(2): 219–225, <https://doi.org/10.1134/s2075113316020027>.

100. Safonova L.A., Bobrova M.M., Agapova O.I., Kotliarova M.S., Arkhipova A.Yu., Moisenovich M.M., Agapov I.I. Biological properties of regenerated silk fibroin films. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2015; 7(3): 6–13, <https://doi.org/10.17691/stm2015.7.3.01>.

101. Efimov A.E., Agapova O.I., Mochalov K.E., Agapov I.I. Three-dimensional analysis of nanomaterials by scanning probe nanotomography. *Physics Procedia* 2015; 73: 173–176, <https://doi.org/10.1016/j.phpro.2015.09.149>.

102. Agapova O.I., Efimov A.E., Moisenovich M.M., Bogush V.G., Agapov I.I. Comparative analysis of three-dimensional nanostructure of porous biocompatible scaffolds made of recombinant spiderin and silk fibroin for regenerative medicine. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs* 2015; 17(2): 37, <http://dx.doi.org/10.15825/1995-1191-2015-2-37-44>.

103. Hou Q., Grijpma D.W., Feijen J. Porous polymeric structures for tissue engineering prepared by a coagulation, compression moulding and salt leaching technique. *Biomaterials* 2003; 24(11): 1937–1947, [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(02\)00562-8](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(02)00562-8).

104. Moore M.J., Jabbari E., Ritman E.L., Lu L., Currier B.L., Windebank A.J., Yaszemski M.J. Quantitative analysis of interconnectivity of porous biodegradable scaffolds with micro-computed tomography. *J Biomed Mater Res A* 2004; 71(2): 258–267, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30138>.

105. Mandal B.B., Kundu S.C. Cell proliferation and migration in silk fibroin 3D scaffolds. *Biomaterials* 2009; 30(15): 2956–2965, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.02.006>.

106. Haugh M.G., Murphy C.M., O'Brien F.J. Novel freeze-drying methods to produce a range of collagen-glycosaminoglycan scaffolds with tailored mean pore sizes. *Tissue Eng Part C Methods* 2010; 16(5): 887–894, <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2009.0422>.

107. Altman G.H., Diaz F., Jakuba C., Calabro T., Horan R.L., Chen J., Lu H., Richmond J., Kaplan D.L. Silk-based biomaterials. *Biomaterials* 2003; 24(3): 401–416, [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(02\)00353-8](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(02)00353-8).

108. Zarkoob S., Eby R.K., Reneker D.H., Hudson S.D., Ertley D., Adams W.W. Structure and morphology of electrospun silk nanofibers. *Polymer* 2004; 45(11): 3973–3977, <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2003.10.102>.

109. Matthews J.A., Wnek G.E., Simpson D.G., Bowlin G.L. Electrospinning of collagen nanofibers.

- Biomacromolecules* 2002; 3(2): 232–238, <https://doi.org/10.1021/bm015533u>.
110. Ohkawa K., Cha D., Kim H., Nishida A., Yamamoto H. Electrospinning of chitosan. *Macromol Rapid Commun* 2004; 25(18): 1600–1605, <https://doi.org/10.1002/marc.200400253>.
111. Ma Z., Kotaki M., Inai R., Ramakrishna S. Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Eng* 2005; 11(1–2): 101–109, <https://doi.org/10.1089/ten.2005.11.101>.
112. Jakab K., Norotte C., Damon B., Marga F., Neagu A., Besch-Williford C.L., Kachurin A., Church K.H., Park H., Mironov V., Markwald R., Vunjak-Novakovic G., Forgacs G. Tissue engineering by self-assembly of cells printed into topologically defined structures. *Tissue Eng Part A* 2008; 14(3): 413–421, <https://doi.org/10.1089/tea.2007.0173>.
113. Norotte C., Marga F.S., Niklason L.E., Forgacs G. Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting. *Biomaterials* 2009; 30(30): 5910–5917, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.06.034>.
114. Murphy S.V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol* 2014; 32(8): 773–785, <https://doi.org/10.1038/nbt.2958>.
115. Wang Q., Xia Q., Wu Y., Zhang X., Wen F., Chen X., Zhang S., Heng B.C., He Y., Ouyang H.W. 3D-printed atsttrin-incorporated alginate/hydroxyapatite scaffold promotes bone defect regeneration with TNF/TNFR signaling involvement. *Adv Healthc Mater* 2015; 4(11): 1701–1708, <https://doi.org/10.1002/adhm.201500211>.
116. Agapov I.I., Moisenovich M.M., Vasilyeva T.V., Pustovalova O.L., Kon'kov A.S., Arkhipova A.Y., Sokolova O.S., Bogush V.G., Sevastianov V.I., Debabov V.G., Kirpichnikov M.P. Biodegradable matrices from regenerated silk of *Bombix mori*. *Dokl Biochem Biophys* 2010; 433: 201–204, <https://doi.org/10.1134/s1607672910040149>.
117. Agapov I.I., Pustovalova O.L., Moisenovich M.M., Bogush V.G., Sokolova O.S., Sevastyanov V.I., Debabov V.G., Kirpichnikov M.P. Three-dimensional scaffold made from recombinant spider silk protein for tissue engineering. *Dokl Biochem Biophys* 2009; 426(1): 127–130, <https://doi.org/10.1134/s1607672909030016>.
118. Varkey A., Venugopal E., Sugumaran P., Janarthanan G., Pillai M.M., Rajendran S., Bhattacharyya A. Impact of silk fibroin-based scaffold structures on human osteoblast MG63 cell attachment and proliferation. *Int J Nanomedicine* 2015; 10(Suppl 1): 43–51, <https://doi.org/10.2147/ijn.s82209>.
119. Sangkerd S., Meesane J., Kamonmattayakul S., Chai W.L. Modified silk fibroin scaffolds with collagen/decellularized pulp for bone tissue engineering in cleft palate: morphological structures and biofunctionalities. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2016; 58: 1138–1149, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.09.031>.
120. Shao W., He J., Sang F., Ding B., Chen L., Cui S., Li K., Han Q., Tan W. Coaxial electrospun aligned tussah silk fibroin nanostructured fiber scaffolds embedded with hydroxyapatite-tussah silk fibroin nanoparticles for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2016; 58: 342–351, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.046>.
121. Ding X., Zhu M., Xu B., Zhang J., Zhao Y., Ji S., Wang L., Wang L., Li X., Kong D., Ma X., Yang Q. Integrated trilayered silk fibroin scaffold for osteochondral differentiation of adipose-derived stem cells. *ACS Appl Mater Interfaces* 2014; 6(19): 16696–16705, <https://doi.org/10.1021/am5036708>.
122. Zeng S., Liu L., Shi Y., Qiu J., Fang W., Rong M., Guo Z., Gao W. Characterization of silk fibroin/chitosan 3D porous scaffold and in vitro cytology. *PLoS One* 2015; 10(6): e0128658, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128658>.
123. Moisenovich M.M., Arkhipova A.Y., Orlova A.A., Drutskaya M.S., Volkova S.V., Zacharov S.E., Agapov I.I., Kirpichnikov M.P. Composite scaffolds containing silk fibroin, gelatin, and hydroxyapatite for bone tissue regeneration and 3D cell culturing. *Acta Naturae* 2014; 6(1): 96–101.
124. Tong S., Xu D.P., Liu Z.M., Du Y., Wang X.K. Synthesis of the new-type vascular endothelial growth factor-silk fibroin-chitosan three-dimensional scaffolds for bone tissue engineering and in vitro evaluation. *J Craniofac Surg* 2016; 27(2): 509–515, <https://doi.org/10.1097/scs.0000000000002296>.
125. Ming J., Jiang Z., Wang P., Bie S., Zuo B. Silk fibroin/sodium alginate fibrous hydrogels regulated hydroxyapatite crystal growth. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2015; 51: 287–293, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.03.014>.
126. Lyu X., Li Z., Wang H., Yang X. Bioactive glass 45S5-silk fibroin membrane supports proliferation and differentiation of human dental pulp stem cells. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2015; 50(12): 725–730.
127. Wang X., Gu Z., Jiang B., Li L., Yu X. Surface modification of strontium-doped porous bioactive ceramic scaffolds via poly(DOPA) coating and immobilizing silk fibroin for excellent angiogenic and osteogenic properties. *Biomater Sci* 2016; 4(4): 678–688, <https://doi.org/10.1039/c5bm00482a>.
128. Zhang W., Zhu C., Ye D., et al. Porous silk scaffolds for delivery of growth factors and stem cells to enhance bone regeneration. *PLoS One* 2014; 9(7): e102371, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102371>.
129. Gu Y., Chen L., Niu H.Y., Shen X.F., Yang H.L. Promoting spinal fusions by biomaterialized silk fibroin films seeded with bone marrow stromal cells: an in vivo animal study. *J Biomater Appl* 2016; 30(8): 1251–1260, <https://doi.org/10.1177/0885328215620067>.
130. Luo Z., Jiang L., Xu Y., Li H., Xu W., Wu S., Wang Y., Tang Z., Lv Y., Yang L. Mechano growth factor (MGF) and transforming growth factor (TGF)-beta3 functionalized silk scaffolds enhance articular hyaline cartilage regeneration in rabbit model. *Biomaterials* 2015; 52: 463–375, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.01.001>.
131. Vishwanath V., Pramanik K., Biswas A. Optimization and evaluation of silk fibroin-chitosan freeze dried porous scaffolds for cartilage tissue engineering application. *J Biomater Sci Polym Ed* 2016; 27(7): 657–674, <https://doi.org/10.1080/09205063.2016.1148303>.
132. Wang J., Yang Q., Cheng N., Tao X., Zhang Z., Sun X., Zhang Q. Collagen/silk fibroin composite scaffold incorporated with PLGA microsphere for cartilage repair. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2016; 61: 705–511, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.097>.
133. Lan Y., Li W., Jiao Y., Guo R., Zhang Y., Xue W., Zhang Y. Therapeutic efficacy of antibiotic-loaded gelatin microsphere/silk fibroin scaffolds in infected full-thickness burns. *Acta Biomater* 2014; 10(7): 3167–3176, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.03.029>.
134. Ju H.W., Lee O.J., Lee J.M., Moon B.M., Park H.J., Park Y.R., Lee M.C., Kim S.H., Chao J.R., Ki C.S., Park C.H. Wound healing effect of electrospun silk fibroin nanomatrix in burn-model. *Int J Biol Macromol* 2016; 85: 29–39, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.12.055>.

- 135.** Navone S.E., Pascucci L., Dossena M., Ferri A., Invernici G., Acerbi F., Cristini S., Bedini G., Tosetti V., Ceserani V., Bonomi A., Pessina A., Freddi G., Alessandrino A., Ceccarelli P., Campanella R., Marfia G., Alessandri G., Parati E.A. Decellularized silk fibroin scaffold primed with adipose mesenchymal stromal cells improves wound healing in diabetic mice. *Stem Cell Res Ther* 2014; 5(1): 7, <https://doi.org/10.1186/srct396>.
- 136.** Floren M., Bonani W., Dharmarajan A., Motta A., Migliaresi C., Tan W. Human mesenchymal stem cells cultured on silk hydrogels with variable stiffness and growth factor differentiate into mature smooth muscle cell phenotype. *Acta Biomater* 2016; 31: 156–166, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.11.051>.
- 137.** Chomachayi M.D., Solouk A., Mirzadeh H. Electrospun silk-based nanofibrous scaffolds: fiber diameter and oxygen transfer. *Prog Biomater* 2016; 5: 71–80, <https://doi.org/10.1007/s40204-016-0046-6>.
- 138.** Wu H.Y., Zhang F., Yue X.X., Ming J.F., Zuo B.Q. Wet-spun silk fibroin scaffold with hierarchical structure for ligament tissue engineering. *Materials Letters* 2014; 135: 63–66, <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.07.115>.
- 139.** Jiang J., Ai C., Zhan Z., Zhang P., Wan F., Chen J., Hao W., Wang Y., Yao J., Shao Z., Chen T., Zhou L., Chen S. Enhanced fibroblast cellular ligamentization process to polyethylene terephthalate artificial ligament by silk fibroin coating. *Artif Organs* 2016; 40(4): 385–393, <https://doi.org/10.1111/aor.12571>.
- 140.** Bi F., Shi Z., Liu A., Guo P., Yan S. Anterior cruciate ligament reconstruction in a rabbit model using silk-collagen scaffold and comparison with autograft. *PLoS One* 2015; 10(5): e0125900, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125900>.
- 141.** Naghashzargar E., Farè S., Catto V., Bertoldi S., Semnani D., Karbasi S., Tanzi M.C. Nano/micro hybrid scaffold of PCL or P3HB nanofibers combined with silk fibroin for tendon and ligament tissue engineering. *J Appl Biomater Funct Mater* 2015; 13(2): e156–e168, <https://doi.org/10.5301/jabfm.5000216>.
- 142.** Zhu M., Wang K., Mei J., Li C., Zhang J., Zheng W., An D., Xiao N., Zhao Q., Kong D., Wang L. Fabrication of highly interconnected porous silk fibroin scaffolds for potential use as vascular grafts. *Acta Biomater* 2014; 10(5): 2014–2023, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.01.022>.
- 143.** Catto V., Farè S., Cattaneo I., Figliuzzi M., Alessandrino A., Freddi G., Remuzzi A., Tanzi M.C. Small diameter electrospun silk fibroin vascular grafts: Mechanical properties, in vitro biodegradability, and in vivo biocompatibility. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2015; 54: 101–111, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.05.003>.
- 144.** Zhang W., Wray L.S., Rnjak-Kovacina J., Xu L., Zou D., Wang S., Zhang M., Dong J., Li G., Kaplan D.L., Jiang X. Vascularization of hollow channel-modified porous silk scaffolds with endothelial cells for tissue regeneration. *Biomaterials* 2015; 56: 68–77, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.03.053>.
- 145.** Seib F.P., Herklotz M., Burke K.A., Maitz M.F., Werner C., Kaplan D.L. Multifunctional silk-heparin biomaterials for vascular tissue engineering applications. *Biomaterials* 2014; 35(1): 83–91, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.09.053>.
- 146.** Zhao L., Xu Y., He M., Zhang W., Li M. Preparation of spider silk protein bilayer small-diameter vascular scaffold and its biocompatibility and mechanism research. *Composites Interfaces* 2014; 21(9): 869–884, <https://doi.org/10.1080/15685543.2014.970416>.
- 147.** Aytemiz D., Suzuki Y., Shindo T., Saotome T., Tanaka R., Asakura T. In vitro and in vivo evaluation of hemocompatibility of silk fibroin based artificial vascular grafts. *Int J Chem* 2014; 6(2), <https://doi.org/10.5539/ijc.v6n2p1>.
- 148.** Adali T., Uncu M. Silk fibroin as a non-thrombogenic biomaterial. *Int J Biol Macromol* 2016; 90: 11–19, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.088>.
- 149.** Franck D., Chung Y.G., Coburn J., Kaplan D.L., Estrada C.R. Jr., Mauney J.R. In vitro evaluation of bi-layer silk fibroin scaffolds for gastrointestinal tissue engineering. *J Tissue Eng* 2014; 5: 2041731414556849, <https://doi.org/10.1177/2041731414556849>.
- 150.** Hou L., Gong C., Zhu Y. In vitro construction and in vivo regeneration of esophageal bilamellar muscle tissue. *J Biomater Appl* 2016; 30(9): 1373–1384, <https://doi.org/10.1177/0885328215627585>.
- 151.** Sack B.S., Mauney J.R., Estrada C.R. Jr. Silk fibroin scaffolds for urologic tissue engineering. *Curr Urol Rep* 2016; 17(2): 16, <https://doi.org/10.1007/s11934-015-0567-x>.
- 152.** Steins A., Dik P., Müller W.H., Vervoort S.J., Reimers K., Kuhbier J.W., Vogt P.M., van Apeldoorn A.A., Coffey P.J., Schepers K. In vitro evaluation of spider silk meshes as a potential biomaterial for bladder reconstruction. *PLoS One* 2015; 10(12): e0145240, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145240>.
- 153.** Lv X., Li Z., Chen S., Xie M., Huang J., Peng X., Yang R., Wang H., Xu Y., Feng C. Structural and functional evaluation of oxygenating keratin/silk fibroin scaffold and initial assessment of their potential for urethral tissue engineering. *Biomaterials* 2016; 84: 99–110, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.01.032>.
- 154.** Zhang C., Zhang Y., Shao H., Hu X. Hybrid silk fibers dry-spun from regenerated silk fibroin/graphene oxide aqueous solutions. *ACS Appl Mater Interfaces* 2016; 8(5): 3349–3358, <https://doi.org/10.1021/acsami.5b11245>.
- 155.** Xu Y., Zhang Z., Chen X., Li R., Li D., Feng S. A silk fibroin/collagen nerve scaffold seeded with a co-culture of schwann cells and adipose-derived stem cells for sciatic nerve regeneration. *PLoS One* 2016; 11(1): e0147184, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147184>.
- 156.** Chwalek K., Sood D., Cantley W.L., White J.D., Tang-Schomer M., Kaplan D.L. Engineered 3D silk-collagen-based model of polarized neural tissue. *J Vis Exp* 2015; 105: e52970, <https://doi.org/10.3791/52970>.
- 157.** Wang Y.L., Gu X.M., Kong Y., Feng Q.L., Yang Y.M. Electrospun and woven silk fibroin/poly(lactic-co-glycolic acid) nerve guidance conduits for repairing peripheral nerve injury. *Neural Regen Res* 2015; 10(10): 1635–1642, <https://doi.org/10.4103/1673-5374.167763>.
- 158.** Moisenovich M.M., Malyuchenko N.V., Arkhipova A.Y., Kotlyarova M.S., Davydova L.I., Goncharenko A.V., Agapova O.I., Drutskaya M.S., Bogush V.G., Agapov I.I., Debabov V.G., Kirpichnikov M.P. Novel 3D-microcarriers from recombinant spider silk for regenerative medicine. *Dokl Biochem Biophys* 2015; 463: 232–235, <https://doi.org/10.1134/s1607672915040109>.
- 159.** Arkhipova A.Y., Kotlyarova M.C., Novichkova S.G., Agapova O.I., Kulikov D.A., Kulikov A.V., Drutskaya M.S., Agapov I.I., Moisenovich M.M. New silk fibroin-based bioresorbable microcarriers. *Bull Exp Biol Med* 2016; 160(4): 491–494, <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3204-x>.

160. Zhang S.S., Li J.J., Zhang X.F., Lu S.Z. Corneal matrix repair carrier with composite silk protein membrane. *Materials Science Forum* 2015; 815: 424–428, <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/msf.815.424>.
161. Teplenin A., Krashennikova A., Agladze N., Sidoruk K., Agapova O., Agapov I., Bogush V., Agladze K. Functional analysis of the engineered cardiac tissue grown on recombinant spidroin fiber meshes. *PLoS One* 2015; 10(3): e0121155, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121155>.
162. Lerdchai K., Kitsongsermthorn J., Ratanavaraporn J., Kanokpanont S., Damrongsakkul S. Thai silk fibroin/gelatin sponges for the dual controlled release of curcumin and docosahexaenoic acid for anticancer treatment. *J Pharm Sci* 2016; 105(1): 221–230, <https://doi.org/10.1002/jps.24701>.
163. Cheng C., Teasdale I., Brüggemann O. Stimuli-responsive capsules prepared from regenerated silk fibroin microspheres. *Macromol Biosci* 2014; 14(6): 807–816, <https://doi.org/10.1002/mabi.201300497>.
164. Zeng D.M., Pan J.J., Wang Q., Liu X.F., Wang H., Zhang K.Q. Controlling silk fibroin microspheres via molecular weight distribution. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2015; 50: 226–233, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.02.005>.
165. Zhang H., Ma X., Cao C., Wang M., Zhu Y. Multifunctional iron oxide/silk-fibroin (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SF) composite microspheres for the delivery of cancer therapeutics. *RSC Adv* 2014; 4(78): 41572–41577, <https://doi.org/10.1039/c4ra05919k>.
166. Agostini E., Winter G., Engert J. Water-based preparation of spider silk films as drug delivery matrices. *J Control Release* 2015; 213: 134–141, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.06.025>.
167. Yucel T., Lovett M.L., Giangregorio R., Coonahan E., Kaplan D.L. Silk fibroin rods for sustained delivery of breast cancer therapeutics. *Biomaterials* 2014; 35(30): 8613–8620, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.06.030>.
168. Sharma S., Bano S., Ghosh A.S., Mandal M., Kim H.W., Dey T., Kundu S.C. Silk fibroin nanoparticles support in vitro sustained antibiotic release and osteogenesis on titanium surface. *Nanomedicine* 2016; 12(5): 1193–1204, <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.12.385>.
169. Li X., Qin J., Ma J. Silk fibroin/poly (vinyl alcohol) blend scaffolds for controlled delivery of curcumin. *Regen Biomater* 2015; 2(2): 97–105, <https://doi.org/10.1093/rb/rbv008>.
170. Kim S.Y., Naskar D., Kundu S.C., Bishop D.P., Doble P.A., Boddy A.V., Chan H.K., Wall I.B., Chrzanowski W. Formulation of biologically-inspired silk-based drug carriers for pulmonary delivery targeted for lung cancer. *Sci Rep* 2015; 5: 11878, <https://doi.org/10.1038/srep11878>.
171. Florczak A., Mackiewicz A., Dams-Kozłowska H. Functionalized spider silk spheres as drug carriers for targeted cancer therapy. *Biomacromolecules* 2014; 15(8): 2971–2981, <https://doi.org/10.1021/bm500591p>.
172. Yu D., Sun C., Zheng Z., Wang X., Chen D., Wu H., Wang X., Shi F. Inner ear delivery of dexamethasone using injectable silk-polyethylene glycol (PEG) hydrogel. *Int J Pharm* 2016; 503(1–2): 229–237, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.02.048>.
173. Applegate M.B., Partlow B.P., Coburn J., Marelli B., Pirie C., Pineda R., Kaplan D.L., Omenetto F.G. Photocrosslinking of silk fibroin using riboflavin for ocular prostheses. *Adv Mater* 2016; 28(12): 2417–2420, <https://doi.org/10.1002/adma.201504527>.
174. Khalid A., Mitropoulos A.N., Marelli B., Tomljenovic-Hanic S., Omenetto F.G. Doxorubicin loaded nanodiamond-silk spheres for fluorescence tracking and controlled drug release. *Biomed Opt Express* 2016; 7(1): 132–147, <https://doi.org/10.1364/boe.7.000132>.