

## МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПЛЕНОК И ТРЕХМЕРНЫХ МАТРИКСОВ ИЗ ФИБРОИНА ШЕЛКА И ЖЕЛАТИНА

© 2017 г. Д.В. Багров\*, В.А. Жуйков\*\*, Ю.В. Чудинова\* \*\*, А.Ю. Ярышева\*\*\*, М.С. Котлярова\*, А.Ю. Архипова\*, Д.Д. Хайдапова\*\*\*\*, М.М. Мойсенович\*, К.В. Шайтан\*

\*Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119234, Москва, Ленинские горы, 1/12

\*\*Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33/2

\*\*\*Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119234, Москва, Ленинские горы, 1/3

\*\*\*\*Факультет почвоведения Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119234, Москва, Ленинские горы, 1/12

E-mail: dbagrov@gmail.com

Почтупила в редакцию 28.06.16 г.

Сопоставлены механические свойства пленок и трехмерных матриксов из фиброина шелка, биосовместимого биорезорбируемого материала, используемого в хирургии и тканевой инженерии, и из фиброина с желатином, добавляемым в состав изделий из фиброина для улучшения клеточной адгезии. Показано, что введение в состав фиброиновых матриксов 30% желатина не приводит к изменению их микроструктуры и способности к набуханию. Добавка желатина снижает механические характеристики пленок (уменьшает модуль Юнга, максимальное напряжение и удлинение), но увеличивает модуль сдвига матриксов.

*Ключевые слова:* фиброин шелка, желатин, механические свойства полимеров, пористость, трехмерный матрикс.

Тканевая инженерия – это междисциплинарная область науки, которая применяет принципы инженерии и наук о жизни для создания аналогов органов и тканей, чтобы с их помощью восстанавливать, поддерживать и улучшать функции поврежденных или утраченных [1]. Ключевым компонентом искусственно созданного органа или ткани является скаффолд, который служит в качестве субстрата для клеток и обеспечивает структурную целостность вновь образованной ткани. Скаффолды должны соответствовать определенным критериям, в том числе иметь подходящие механические свойства, биосовместимость и способность к биодеградации по мере восстановления ткани [2]. Во многом эти качества определяются материалом, из которого изготовлен скаффолд. Для получения скаффолдов используют синтетические полимеры [3] и полимеры природного происхождения, например коллаген [4], хитозан

[5], полиэфирные бактериального происхождения [6].

Большой интерес представляет использование для создания скаффолдов фиброина шелка как одного из наиболее прочных природных полимеров, обладающего рядом уникальных свойств. Изделия на основе фиброина шелка биосовместимы, биорезорбируемы, не токсичны и не иммуногенны [7]. Фиброин – это фибриллярный белок, в котором присутствуют два типа структурных составляющих: высокоорганизованные кристаллические домены из антипараллельных  $\beta$ -складок и аморфные домены, формирующиеся из менее упорядоченных фрагментов белковых цепей [8]. Говоря упрощенно, кристаллические  $\beta$ -складчатые структуры обеспечивают жесткость и прочность фиброина, в то время как аморфные домены способствуют высокой растяжимости и ударной вязкости [9].

Скаффолды из фиброина могут быть сформированы в виде трехмерных пористых матриксов [10], пленок [11], гелей [12], трубок [13] и др. Активно изучается возможность приме-

Сокращение: КЛСМ – конфокальная лазерная сканирующая микроскопия.

нения различных конструкций на основе фиброина для восстановления костей [14], хрящей [15], нервной ткани [16], роговицы глаза [17] и других тканей.

Большие перспективы имеет использование фибриновых матриц для восстановления костной ткани. Имплантация трехмерного пористого матрикса из фиброина в область дефекта в бедренной кости крысы ведет к ускорению регенерации кости по сравнению с контролем [18]. В остеогенных условиях мезенхимальные стволовые клетки крысы на матриксах из фиброина способны дифференцироваться по остеогенной линии. Через 28 дней культивирования на матриксах обнаруживаются участки минерализации [19].

Привлекательность матриц на основе фиброина для костной инженерии обусловлена низкой скоростью биодеградации и высокой механической прочностью этого материала, что необходимо для поддержания целостности ткани после имплантации [20]. Однако механические свойства матриц определяются не только свойствами фиброина, но зависят и от методов изготовления и обработки, которые влияют на содержание  $\beta$ -листов и морфологию [21]. На основе фиброина шелка часто готовят композиты с другими биосовместимыми полимерами [22,23] или минералами [24], чтобы подобрать комбинацию материалов с оптимальными свойствами.

Желатин, продукт денатурации коллагена, может использоваться для того, чтобы улучшить сродство клеток к поверхности фиброина. Было показано, что внесение желатина в состав матриц на основе фиброина приводит к увеличению адгезии фибробластов на их поверхности, при этом оптимальное количество желатина составляло 30% по массе [25]. Однако внесение желатина в структуру матрикса также может изменять его механические свойства [26]. В данной работе исследованы механические свойства матриц и пленок из фиброина, а также из смеси фиброина и желатина. Было исследовано их набухание, для пленок проведены испытания на разрыв, для матриц исследована микроструктура и проведены реологические измерения. Обнаружено, что добавка желатина снижает механические характеристики пленок (уменьшает модуль Юнга, максимальное напряжение и удлинение), но увеличивает модуль сдвига матриц.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Приготовление растворов.** Для приготовления раствора фиброина использовали хирургиче-

ские нити (ГОСТ 396-84, сертификат соответствия № 0302120). Для приготовления матриц навеску нитей растворяли на водяной бане в смеси  $\text{CaCl}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$  в молярном соотношении 1:2:8 в течение 5 ч при температуре 80°C. Полученный раствор центрифугировали 7 мин при 15500 g на центрифуге Centrifuge 5418R (Eppendorf, Германия), супернатант диализовали против дистиллированной воды в течение 20 ч, проводя смену воды 10 раз. Затем повторно центрифугировали, осадок удаляли, полученный раствор фиброина разводили дистиллированной водой до концентрации 20 мг/мл.

Для изготовления пленок навеску нитей растворяли в 9,3 М растворе LiBr, затем диализовали против дистиллированной воды в течение 5 ч, меняя воду во внешнем резервуаре каждые 30 мин. Концентрацию водного раствора фиброина доводили до 70 мг/мл.

Желатин типа А (Sigma Aldrich, США) растворяли в дистиллированной воде при температуре 37°C. Для приготовления композитных матриц и пленок растворы фиброина и желатина, имеющие одинаковую концентрацию (20 мг/мл для изготовления матриц и 70 мг/мл для изготовления пленок), смешивали в соотношении 7:3 по объему.

**Изготовление матриц.** Для изготовления матриц использовали метод замораживания–оттаивания. В растворы фиброина и фиброина с желатином добавляли 1% диметилсульфоксида. Затем вносили по 40 мл раствора в чашки Петри диаметром 10 см и замораживали при -20°C в течение 7 суток. Матрицы размораживали в 96%-м спирте в течение двух часов, после чего образцы извлекали из формы и переносили в 70%-й спирт. Для проведения механических испытаний вырезали образцы в форме цилиндров диаметром 25 мм и толщиной 2–4 мм.

**Изготовление пленок.** Пленки изготавливали методом полива. Водные растворы фиброина и фиброина с желатином наносили на поверхность полированного тефлона из расчета 136 мкл/см<sup>2</sup> и высушивали при комнатной температуре в течение двух суток. Сухие пленки обрабатывали 96%-м спиртом в течение одного часа, затем отделяли их от тефлона и переносили в 96%-й спирт. Далее постепенно переводили пленки в дистиллированную воду, уменьшая концентрацию спирта на 10% каждые 15 мин. Готовые пленки переносили в 70%-й спирт для хранения. Непосредственно перед измерениями пленки переносили в воду.

**Измерение набухания пленок и матриц.** Для изучения набухания пленки и матрицы на основе фиброина и фиброина с желатином лио-

фильно высушивали, после чего измеряли массу сухих образцов ( $W_{dry}$ ). Затем образцы помещали в дистиллированную воду на 6 ч. После извлечения удаляли излишки влаги и измеряли массу влажных образцов ( $W_{wet}$ ). Степень набухания ( $\omega$ ) определяли по формуле

$$\omega = \frac{W_{wet} - W_{dry}}{W_{wet}} \cdot 100\%.$$

#### Сканирующая электронная микроскопия.

Для изучения структуры матриксов методом электронной сканирующей микроскопии образцы матриксов обезвоживали 96%-м спиртом и ацетоном, после чего высушивали их методом перехода критической точки на приборе HSP-2 (Hitachi, Япония). Для изучения внутренней структуры матриксов делали поперечные срезы образцов. Препараты покрывали слоем золота толщиной 20 нм с использованием прибора IonCoaterIB-3 (Eiko Engineering, Япония). Исследования проводили на электронном микроскопе ТМ 3000 (Hitachi, Япония) при напряжении 15 кВ.

**Изучение структуры матриксов методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ).** Для изучения структуры матриксов в водной среде методом КЛСМ материал матриксов конъюгировали с флуоресцеин-5-изотиоцианатом производства Sigma Aldrich (США). Инкубировали образцы в течение 1 ч в 90 мМ растворе флуоресцеин-5-изотиоцианата в фосфатно-солевом буфере, рН 7,5 в темноте при комнатной температуре. Реакцию останавливали, помещая образец в 0,1 М раствор триса на 30 мин. Несвязавшийся краситель удаляли, помещая матриксы в фосфатно-солевой буфер.

Исследования проводили на микроскопе Eclipse Ti-E с конфокальным модулем A1 (Nikon Corporation, Япония). Для изучения образцов использовали объектив Plan Fluor 10x/0,3 и лазер с длиной волны 488 нм. Диаметр конфокальной диафрагмы, установки лазера и анализирующих фильтров настраивали согласно рекомендации производителей. Получали серии оптических срезов на глубину 100 мкм с шагом 6,475 мкм. Диаметр пор определяли с использованием программы Nis-Elements v.4.13.

#### Механические испытания пленок на разрыв.

Механические свойства пленок исследовали на универсальном динамометре «Model 4301» (Instron, США). Образцы вырубали в виде лопаточек с рабочей частью  $3,9 \times 10$  мм. Вытяжку проводили со скоростью 2 мм/мин (20%/мин) в водной среде.

#### Измерение свойств матриксов на реометре.

Реологические измерения были проведены на

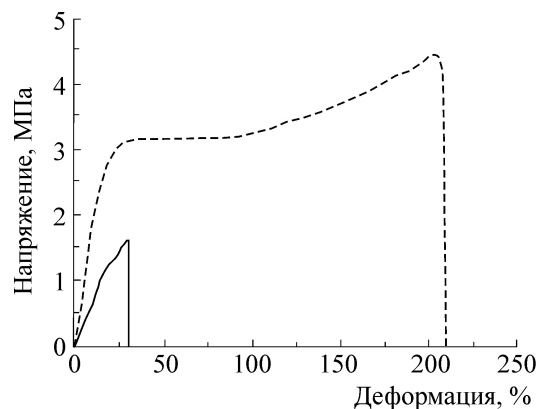


Рис. 1. Кривые «напряжение–деформация» для пленок из фиброина (пунктирная линия) и из фиброина с желатином (сплошная линия).

реометре MCR-302 (Anton Paar, Австрия). Измерения проводили на влажных образцах при температуре 25°C. Использовали геометрию плита–плита с диаметром 25 мм, толщина образцов составляла 2–4 мм.

На реометре проводили два типа измерений – амплитудный и частотный тесты. Амплитудный тест проводили в режиме контроля напряжения при угловой скорости 10 рад/с для решения двух задач. Вначале на нескольких образцах измерили диапазон линейной вязкоупругости, он составлял до 0,3%. Потом при малой максимальной амплитуде (0,1–0,3%), лежащей внутри этого диапазона, проводили амплитудный тест при разных значениях зазора [27]. Это позволило выбрать величину зазора для последующего проведения частотных тестов, далее приводятся только их результаты. Частотные тесты проводили при угловой скорости от 0,1 до 100 рад/с с амплитудой 0,1%.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Исследование свойств пленок.** Фиброин является одним из наиболее прочных и одновременно эластичных биodeградируемых полимеров. Кривая «растяжение–деформация» пленки из фиброина показана на рис. 1, она имеет плато текучести, характерное для многих полимерных пленок. Добавление желатина ухудшает основные механические характеристики (модуль Юнга, предел прочности и удлинение при максимальном напряжении, см. таблицу) и приводит к увеличению разброса данных. Кроме того, пропадает участок течения материала (рис. 1). Эти результаты ожидаемы, так как желатин более мягкий и менее эластичный материал, чем фиброин [28]. В то же время при изготовлении пленок методом электроспиннин-

Механические свойства пленок из фиброина и из фиброина с желатином

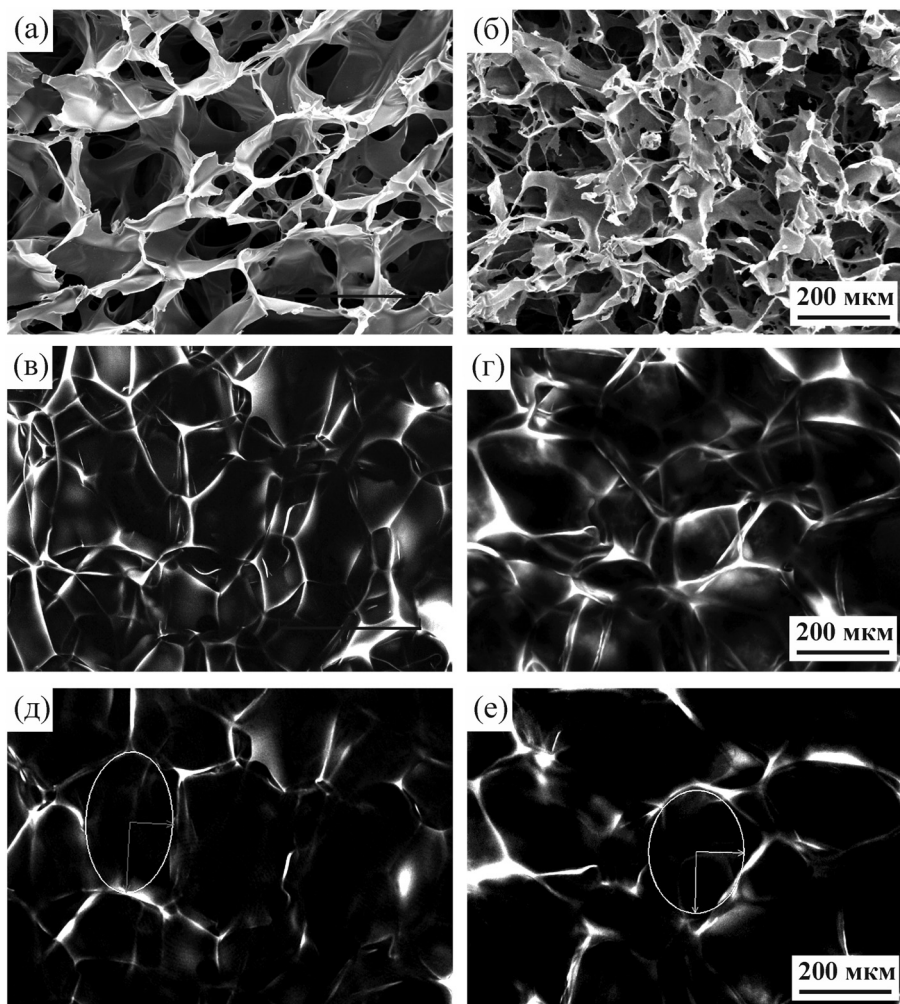
| Параметр  | Фиброин | Фиброин с желатином |
|---|---------|---------------------|
| Модуль Юнга $E$ , МПа                                       | 13–18   | 6–7                 |
| Предел прочности $\sigma_{\max}$ , МПа                      | 4,5–4,7 | 0,75–1,3            |
| Удлинение при максимальном напряжении $\epsilon_{\max}$ , % | 205–235 | 30–40               |

га, а не полива, добавка желатина к фиброину улучшает механические свойства: максимальное напряжение и максимальное удлинение пленок, полученных из фиброина с желатином, выше, чем у пленок из чистого фиброина [29].

**Морфология матриц.** Были изготовлены матрицы из фиброина и матрицы на основе фиброина, содержащие 30% желатина. Микроструктура матриц была исследована методами сканирующей электронной микроскопии

и КЛСМ. Матрицы обоих типов имели пористую структуру как в высушенном состоянии (рис. 2а,б), так и во влажном (рис. 2в,г).

Наличие пор в структуре скаффолда необходимо для миграции клеток и их пролиферации, а также для прорастания сосудов и нервов внутрь матрикса после имплантации [2]. Своевременное появление кровоснабжения обеспечивает выживание формирующейся ткани, а также играет важную роль в координации дея-



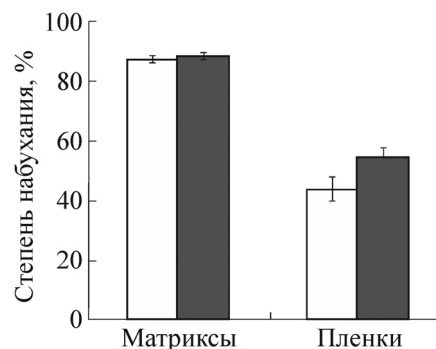
**Рис. 2.** Пористая структура фиброиновых матриц (а,в,д) и матриц на основе фиброина с 30% содержанием желатина (б,г,е). Изображения (а) и (б) получены методом сканирующей электронной микроскопии; (в)–(е) – методом КЛСМ. На изображениях (в) и (г) представлены проекции серий из 15 оптических срезов с общей толщиной 100 мкм. На изображениях (д) и (е) представлены отдельные оптические срезы, показаны эллипсы, с помощью которых оценивали размер пор. Матрицы конъюгированы с флуоресцеин-5-изотиоцианатом.

тельности клеток, участвующих в ее ремоделировании [30]. Размер пор является важной характеристикой матрикса и во многом определяет его взаимодействие с клетками как *in vitro*, так и *in vivo*. Например, на коллаген-хитозановых матриксах с диаметром пор 85–120 мкм миграция клеток была затруднена, так как плотные скопления клеток образовывали оболочку вокруг внешней поверхности матрикса, которая ограничивала диффузию питательных веществ и удаление продуктов метаболизма [31]. В то же время на матриксах с порами диаметром 325 мкм клетки свободно мигрировали вглубь матрикса.

Изображения матриксов, полученные методом КЛСМ, корректнее отражают их микроструктуру, поскольку высушивание, необходимое для исследования методом сканирующей электронной микроскопии, может влиять на толщину стенок и форму пор. Поэтому для количественной обработки были выбраны изображения, полученные методом КЛСМ. На отдельных оптических срезах поры имели форму неправильных многоугольников (рис. 1д,е). В эти многоугольники вписывали эллипсы таким образом, чтобы вписанные эллипсы имели наибольшее количество точек касания со стенкой поры. За размер пор принимали полусумму осей вписанного эллипса. Матрикс из фиброина и матрикс, содержащий желатин, имели поры с диаметром  $220 \pm 65$  мкм и  $250 \pm 80$  мкм соответственно (различия не значимы,  $p = 0,09 > 0,05$ ).

**Способность матриксов и пленок к набуханию.** Способность к набуханию является важной характеристикой как для биологических тканей, так и для биоматериалов, в том числе матриксов [23]. Проницаемость материала для воды обеспечивает возможность транспортировать питательные вещества в матрикс и выводить продукты обмена [32]. Результаты измерения степени набухания матриксов и пленок на основе фиброина и фиброина с желатином представлены на рис. 3. За меру способности к набуханию мы принимали прирост массы образца при погружении в воду, отнесенный к массе влажного образца. Значения, полученные в нашей работе, отлично соответствуют известным значениям набухания пленок и матриксов из фиброина [23,33].

Степень набухания пленок из фиброина с желатином выше, чем пленок из чистого фиброина. Вероятно, это связано с тем, что желатин делает пленку более гидрофильной. За счет пористой структуры степень набухания матриксов значительно выше, чем пленок. Для них величина набухания не зависит от материала –



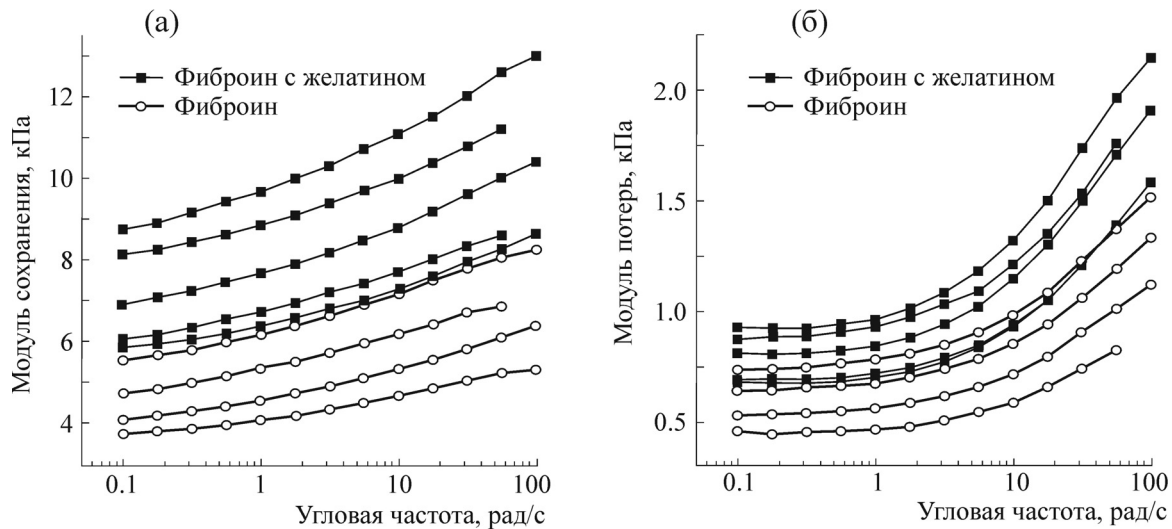
**Рис. 3.** Степень набухания матриксов и пленок из фиброина (светлые столбики) и из фиброина с желатином (темные столбики).

по критерию Стьюдента разница между коэффициентами набухания матриксов из фиброина с желатином и из чистого фиброина незначительна ( $p = 0,97 > 0,05$ ).

**Реометрия матриксов.** С точки зрения наук о полимерах, исследуемые трехмерные матриксы являются гидрогелями. Ротационная реометрия – это наиболее широко используемый способ измерения механических свойств таких материалов. Для полученных в данной работе гидрогелей измеряли зависимости модулей сохранения и потерь от частоты воздействия. Результаты измерений свойств девяти образцов представлены на рис. 4. Образцы были приготовлены независимо друг от друга в разные дни и имели разную толщину в диапазоне от 2 до 4 мм.

Для всех исследованных образцов модуль сохранения оказывался значительно выше, чем модуль потерь, т.е. все образцы представляли собой вязкоупругие тела, а не жидкости. Тангенс угла механических потерь находился в диапазоне 0,1–0,19. Разброс модулей образцов, состоящих из одного и того же материала, может объясняться вариациями пористой микроструктуры. Для всех образцов модули сохранения и потерь росли с увеличением частоты воздействия, т.е. матриксы ведут себя не как полностью сшитые полимеры, а демонстрируют вязкоупругий отклик.

Модуль сохранения матриксов из фиброина с желатином оказывается выше, чем у матриксов из чистого фиброина (рис. 4а), для модуля потерь разница выражена менее явно (рис. 4б). При частоте воздействия 10 рад/с средние модули сохранения составили соответственно  $5,9 \pm 1,1$  и  $9,0 \pm 1,6$  кПа для матриксов из чистого фиброина и из фиброина с желатином. Для модулей потерь разница выражена менее явно,



**Рис. 4.** Зависимости модулей сохранения (а) и модулей потерь (б) матриц от частоты воздействия. Каждая линия соответствует одному матриксу (одной экспериментальной точке).

они составляют соответственно  $0,8 \pm 0,2$  и  $1,1 \pm 0,2$  кПа.

Таким образом, добавка желатина делает матрицы жестче. Аналогичный результат был ранее получен при испытаниях на сжатие матриц, полученных методом замораживания–оттаивания с использованием лиофильной сушки [23]. Матрицы из фиброина с желатином и без него имеют практически одинаковую микроструктуру, пористость и способность к набуханию, причем когда материалы находятся в состоянии пленок, желатин ухудшает механические свойства. Можно предположить, что при приготовлении матрикса желатин увеличивает функциональность шивок (количество полимерных цепей, выходящих из одной шивки), и за счет этого заметно увеличивает модуль сохранения [34]. В данном случае речь идет об эффективных физических, а не о химических шивках [35].

Сравним модули сохранения и потерь матриц, полученных в данной работе, с характеристиками гидрогелей из других материалов. Гели из альгината натрия мягче: они имеют меньшие значения  $G'$ , от 200 Па до 3 кПа в зависимости от концентрации [36]. Гидрогели из рекомбинантного спидроина (белка, близкого по структуре к фиброину), полученные из раствора с концентрацией 20 мг/мл, как в данной работе, также имеют более низкие значения модуля сохранения и потерь – 1 кПа и  $10^2$  Па при частоте в 1 Гц соответственно [37]. Для полисахаридных гелей из высокомолекулярного хитозана со степенью деацетилирования 76,3% характерны значения  $G'$  в диапазоне 15–20 кПа и  $G''$  в диапазоне 1,5–2,0 кПа, в зависимости

от частоты [38], что сопоставимо с нашими результатами. Итак, полученные в данной работе матрицы имеют механические свойства, вполне типичные для гидрогелей.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе описано получение пористых матриц из фиброина и модифицированных матриц с добавлением 30% желатина. Показано, что они имеют похожую микроструктуру и способность к набуханию, но матрицы из фиброина с желатином жестче (имеют больший модуль сдвига), чем матрицы из чистого фиброина. На пленках, полученных методом полива, влияние желатина на механические свойства проявлялось противоположным образом – добавка желатина их ухудшала. Разное влияние желатина, вероятно, объясняется разными способами приготовления изделий, которые определяют разную степень запутанности полимерных цепей и разное количество эффективных шивок между ними.

Механические свойства субстрата существенно влияют на адгезию клеток, скорость их миграции, жизнеспособность, фенотипические изменения и синтетическую активность [39,40]. Контроль механических свойств является важным этапом создания скаффолдов для восстановления тканей и органов *in vivo*. В дальнейшем планируется проследить взаимосвязь между механическими свойствами матриц на основе фиброина и состоянием клеток, выращенных на них. При этом необходимо будет отделить влияние механических свойств на клетки от влияния химического состава материала, из

которого изготовлен матрикс [41,42]. Это может быть достигнуто вариациями концентрации полимера, из которого готовят матрикс, или модификацией поверхности матрикса, которая скрывает химический состав материала.

Работа выполнена с использованием оборудования, находящегося в Центре коллективного пользования научным оборудованием МГУ имени М.В. Ломоносова, а также с использованием оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития Московского университета.

Работа осуществлена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» по Соглашению о предоставлении субсидии от 27 ноября 2014 г. № 14.604.21.0148 «Биорезорбируемые микроносители для доставки клеток в область заживления и регенерации ран», уникальный идентификатор соглашения RFMEFI60414X0148.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. Li, M. Ogiso, and N. Minoura, *Biomaterials* **24** (2), 357 (2003).
2. V. Karageorgiou and D. Kaplan, *Biomaterials* **26** (27), 5474 (2005).
3. J. Rydz, W. Sikorska, M. Kyulavska, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **16** (1), 564 (2014).
4. M. M. Villa, L. Wang, J. Huang, et al., *J. Biomed. Mater. Res. Part B. Appl. Biomater.* **103** (2), 243 (2015).
5. F. Ravanetti, C. Galli, E. Manfredi, et al., *J. Negat. Res. Biomed.* **14** (1), 2 (2015).
6. A. Bonartsev, S. Yakovlev, A. Boskhomdzhiev, et al., *PLoS One* **8** (2), e57200 (2013).
7. S. Saha, B. Kundu, J. Kirkham, et al., *PLoS One* **8** (11), e80004 (2013).
8. C.Z. Zhou, F. Confalonieri, M. Jacquet, et al., *Proteins* **44** (2), 119 (2001).
9. C. Xu, D. Li, Y. Cheng, et al., *Acta Mech. Sin.* **31** (3), 416 (2015).
10. U.-J. Kim, J. Park, H. J. Kim, et al., *Biomaterials* **26** (15), 2775 (2005).
11. S. Hazra, S. Nandi, D. Naskar, et al., *Sci. Rep.* **6**, 21840 (2016).
12. M. Fini, A. Motta, P. Torricelli, et al., *Biomaterials* **26** (17), 3527 (2005).
13. S. Enomoto, M. Sumi, K. Kajimoto, et al., *J. Vasc. Surg.* **51** (1), 155 (2010).
14. B. B. Mandal, A. Grinberg, E. S. Gil, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109** (20), 7699 (2012).
15. Y. Wang, D. J. Blasioli, H. J. Kim, et al., *Biomaterials* **27** (25), 4434 (2006).
16. Y. Yang, X. Chen, F. Ding, et al., *Biomaterials* **28** (9), 1643 (2007).
17. H. Perry, A. Gopinath, D. L. Kaplan, et al., *Adv. Mater.* **20** (16), 3070 (2008).
18. M. M. Moisenovich, O. Pustovalova, J. Shackelford, et al., *Biomaterials* **33** (15), 3887 (2012).
19. B. B. Mandal and S. C. Kundu, *Biomaterials* **30** (28), 5019 (2009).
20. R. L. Horan, K. Antle, A. L. Collette, et al., *Biomaterials* **26** (17), 3385 (2005).
21. J. Melke, S. Midha, S. Ghosh, et al., *Acta Biomater.* **31**, 1 (2016).
22. T. Zhong, Z. Jiang, P. Wang, et al., *Int. J. Pharm.* **494** (1), 264 (2015).
23. W. Tiyaboonchai, P. Chomchalao, S. Pongcharoen, et al., *Fibers Polym.* **12** (3), 324 (2011).
24. M. Ribeiro, M. A. de Moraes, M. M. Beppu, et al., *Eur. Polym. J.* **67**, 66 (2015).
25. А. А. Орлова, М. С. Котлярова, В. С. Лавренов и др., *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **158** (7), 98 (2014).
26. P. Chomchalao, S. Pongcharoen, M. Sutheerawattanononda, et al., *Biomed. Eng. Online* **12** (1), 28 (2013).
27. E. Karpushkin, M. Dusková-Smrèková, T. Remmler, et al., *Polym. Int.* **61** (2), 328 (2012).
28. R. Jeya Shakila, E. Jeevithan, A. Varatharajakumar, et al., *Food Chem.* **135** (4), 2260 (2012).
29. Yin-Guibo, Zhang-Youzhu, Bao-Weiwei, et al., *J. Appl. Polym. Sci.* **111** (3), 1471 (2009).
30. M. Mastrogiacomo, S. Scaglione, R. Martinetti, et al., *Biomaterials* **27** (17), 3230 (2006).
31. C. M. Murphy, M. G. Haugh, and F. J. O'Brien, *Biomaterials* **31** (3), 461 (2010).
32. M. D. Shoulders and R. T. Raines, *Annu. Rev. Biochem.* **78** (1), 929 (2009).
33. C. Foss, E. Merzari, C. Migliaresi, et al., *Biomacromolecules* **14** (1), 38 (2013).
34. A. J. Kuijpers, G. H. M. Engbers, J. Feijen, et al., *Macromolecules* **32** (10), 3325 (1999).
35. M. L. Oyen, *Int. Mater. Rev.* **59**, (1), 44 (2014).
36. E. West, M. Xu, T. Woodruff, et al., *Biomaterials* **28** (30), 4439 (2007).
37. S. Rammensee, D. Huebnerich, K. D. Hermanson, et al., *Appl. Phys. A* **82** (2), 261 (2006).
38. A. Y. Escobedo-Lozano, A. Domard, C. A. Velázquez, et al., *Carbohydr. Polym.* **115**, 707 (2015).
39. D. E. Discher, P. Janmey, and Y.-L. Wang, *Science* **310** (5751), 1139 (2005).
40. J. D. Humphrey, E. R. Dufresne, and M. A. Schwartz, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **15** (12), 802 (2014).
41. K. Saha, A. J. Keung, E. F. Irwin, et al., *Biophys. J.* **95** (9), 4426 (2008).
42. A. Engler, L. Bacakova, C. Newman, et al., *Biophys. J.* **86** (1, Pt 1), 617 (2004).

## **Mechanical Properties of Films and Three-Dimensional Scaffolds Made of Silk Fibroin and Gelatin**

**D.V. Bagrov\***, **V.A. Zhuikov\*\***, **Yu.V. Chudinova\* \*\***, **A.Yu. Yarisheva\*\*\***,  
**M.S. Kotlyarova\***, **A.Yu. Arkhipova\***, **D.D. Khaydapova\*\*\*\***,  
**M.M. Moisenovich**, and **K.V. Shaitan\***

*\*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia*

*\*\*Federal Research Center "Fundamentals of Biotechnology", Russian Academy of Sciences,  
Leninsky prosp. 33/2, Moscow, 119071 Russia*

*\*\*\*Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/3, Moscow, 119234 Russia*

*\*\*\*\*Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia*

In this work we compare mechanical properties of films and three-dimensional scaffolds made of silk fibroin, a biocompatible and bioresorbable material, which can be used in surgery and tissue engineering, and of fibroin with gelatin added to the items made of fibroin in order to improve the cell adhesion. It is shown that the addition of 30% gelatin to the fibroin scaffolds causes no change in their microstructure and swelling ability. The addition of gelatin decreases the mechanical properties of films (decreases the Young's modulus, the maximum strain and elongation) but increases the shear modulus of the scaffolds.

*Key words: silk fibroin, gelatin, mechanical properties of polymers, porosity, three-dimensional scaffolds*