

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РАННЕЙ ТКАНЕВОЙ РЕАКЦИИ НА ПОДКОЖНУЮ ИМПЛАНТАЦИЮ ШЕЛКА ПАУТИНЫ (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

© Заманова Р.А., Файрушина А.И., Власова А.О., Гладких А.Н.

Башкирский государственный медицинский университет (БГМУ)

Россия, 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3

Цель – оценка ранней тканевой реакции на имплантацию различных видов паутины у мышей.

Материалы и методы. Пилотное исследование проводилось на 30 белых половозрелых самцах мышей линии BALB/c (20 ± 5 г), разделенных на 6 групп: интактные, ложнооперированные (контроль) и 4 группы с имплантацией паутины. Паутину собирали методом вытягивания или с каркасов. Имплантацию проводили под наркозом (золетил-ксилазин), материал размещали подкожно в межлопаточной области. Через 7 суток оценивали гистологическую картину (окраска гематоксилин-эозином) и морфометрию толщины воспалительного инфильтрата.

Результаты. При гистологическом исследовании тканей воспалительная реакция наблюдалась во всех экспериментальных группах и характеризовалась активностью полиморфноядерных лейкоцитов и лимфоплазматическим инфильтратом. К 7-му дню эксперимента гигантские клетки инородных тел и эпителиоидные клетки отсутствовали, что свидетельствовало об отсутствии гранулематозной реакции. Морфометрическая оценка толщины перифокальной зоны воспаления показала статистически значимое увеличение толщины инфильтрата в группах с шелком паутины *Chilobrachys dyscolus*, *Narpectira pulchripes* и *Nephila pilipes* по сравнению с контрольной группой. Однако различий между экспериментальными группами выявлено не было.

Заключение. Все изученные виды паутины вызывали острое воспаление с инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами без гранулематоза. Статистически значимых различий в выраженности реакции между разными типами шелка выявлено не было.

Ключевые слова: шелк паутины; реакция на инородное тело; ранняя тканевая реакция.

Заманова Розалия Артуровна – мл. науч. сотрудник лаборатории биопринтинга Института фундаментальной медицины, БГМУ, г. Уфа. ORCID iD: 0009-0003-2986-5251. E-mail: razamanova@bashgmu.ru (автор, ответственный за переписку).

Файрушина Аделия Ильдаровна – мл. науч. сотрудник лаборатории биопринтинга Института фундаментальной медицины, БГМУ, г. Уфа. ORCID iD: 0009-0006-3082-941X. E-mail: adelia_ildariovna@mail.ru

Власова Ангелина Олеговна – мл. науч. сотрудник лаборатории морфологии Института фундаментальной медицины, БГМУ, г. Уфа. ORCID iD: 0009-0002-1818-5077. E-mail: aovlasova@bashgmu.ru

Гладких Александр Николаевич – биолог лаборатории аддитивных технологий Института цифровой медицины, БГМУ, г. Уфа. ORCID iD: 0009-0007-0153-3561. E-mail: angladkih@bashgmu.ru

Разработка материалов для регенеративной медицины с высокой прочностью, эластичностью, обладающих низкой токсичностью, биодegradацией является важнейшей задачей в области материаловедения. В этом контексте особый интерес представляет натуральный шелк паутины. Многочисленные исследования подтверждают, что белки шелка паутины – спидроины, особенно у представителей рода *Nephila*, обладают исключительными механическими характеристиками. Шелк демонстрирует уникальное сочетание высокой прочности и растяжимости, также известно, что он обладает удельной прочностью, которая значительно выше стали и кевлара [1-4]. Помимо механических преимуществ он способен служить направляющим субстратом для клеточной регенерации, включая пролиферацию стволовых клеток, полученных из жировой ткани человека, шванновских клеток и нейронов человека [5-7]. Критически важным аспектом данного биоматериала является способность к биодegradации. Согласно исследованию Kornfeld et al. волокна паутины внутри нервного кондукта подвергаются деградации *in vivo* в течение 90 дней, которая сопровождается минимальным иммунным ответом с участи-

ем гигантских клеток [8]. Благодаря этому отсутствует риск развития хронического воспаления, реакций отторжения и формирования невринома, негативно влияющих на процесс регенерации нервных волокон [9, 10]. Данные преимущества делают шелк паутины одним из самых перспективных и привлекательных биоматериалов для применения в биомедицинской сфере.

Изучение реакции тканей на имплантируемый материал является важной задачей при применении различных природных биоматериалов и имплантатов. Имплантация любого биоматериала сопровождается травматическим воздействием на организм, что приводит к активации воспалительного ответа и процессов тромбообразования [11]. На сегодняшний день изучение реакции на инородное тело при имплантации остается актуальным [12]. Реакция организма на инородное тело развивается последовательно. В ответ на повреждение происходят адсорбция белков на поверхности имплантата, рекрутирование макрофагов, образование гигантских клеток, активация фибробластов и фиброзная инкапсуляция инородного тела [13-17]. При этом реакция на имплантированные

материалы включает несколько этапов: первоначальное повреждение и контакт с кровью, острую воспалительную реакцию, а затем реакцию инородного тела, которая характеризуется хроническим воспалением, формированием грануляционной ткани и фиброзной инкапсуляцией [13]. Острая реакция характеризуется на гистологическом уровне наличием полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов и обычно проходит в течение недели [13].

Следует отметить, что свойства шелка паутины семейства *Nephilidae* были хорошо изучены в условиях *in vivo*, тогда как данные по шелку семейства *Theraphosidae* остаются крайне ограниченными. Известно, что пауки данного семейства характеризуются простотой содержания, в том числе в лабораторных условиях, и значительной продолжительностью жизни (20-30 лет) [18]. Также экспериментальным путем нами было установлено, что сбор паутины у пауков семейства *Theraphosidae* доступнее (например, путем помещения особи в чистый контейнер), чем у пауков семейства *Nephilidae*. В связи с этим мы решили сравнить реакцию тканей на имплантацию шелка паутины видов семейств *Theraphosidae* и *Nephilidae* с целью выбора наиболее биосовместимого материала для дальнейших экспериментов.

Цель данной работы – оценка ранней тканевой реакции на имплантацию различных видов паутины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. Исследование проводилось на 30 белых половозрелых самцах мышей линии BALB/c (20±5 г). Животные были получены из питомника лабораторных животных г. Пущино, Московская область. Во время эксперимента животные содержались в условиях лаборатории Природоподобных материалов Института фундаментальной медицины Башкирского государственного медицинского университета, в полипропиленовых клетках с мягким подстилом из древесных опилок, по 4-5 особей в каждой. Обеспечивался постоянный доступ к воде и стандартному комбинированному корму для грызунов. В помещении поддерживались стандартные параметры температурного режима (22±2°C), относительной влажности, освещенности (световой режим 8.00–20.00) и уровня шума.

Сбор шелка паутины. Для сбора шелка были выбраны пауки видов: *Chilobrachys dyscolus*, *Harpactira pulchripes*, *Monocentropus balfouri* и *Nephila pilipes*. Первые три вида относятся к семейству *Theraphosidae* (пауки-птицееды) – эти

пауки не плетут ловчие сети, так как их паутины плохо дифференцированы, в основном они используют свою паутину для выстилки нор [19].

Chilobrachys dyscolus, *Harpactira pulchripes* и *Monocentropus balfouri* были получены от частного поставщика из г. Москвы, данные виды успешно содержат и разводят в неволе на протяжении нескольких поколений. Взрослая самка *Nephila pilipes*, относящаяся к семейству *Nephilidae*, была привезена из Таиланда.

Во время эксперимента пауки содержались в условиях лаборатории Природоподобных материалов Института фундаментальной медицины Башкирского государственного медицинского университета. Пауки-птицееды жили в стеклянных террариумах объемом 10 литров, с проточной вентиляцией, по одной особи в террариуме. *Nephila pilipes* содержалась в садке из сетки. В качестве подстилки использовалась кокосовая крошка (измельченное волокно из межплодника орехов кокосовой пальмы). Для поддержания влажности в террариуме кокосовую крошку с периодичностью раз в неделю поливали водой. В помещении поддерживались стандартные параметры температурного режима (22±2°C), относительной влажности, освещенности (световой режим 8.00-20.00) и уровня шума. Пауки питались живыми имаго мраморного таракана (*Nauphoeta cinerea*) 3 раза в месяц.

Для сбора паутины птицеедов пауков на сутки пересаживали в отдельный чистый контейнер без кокосового субстрата. В контейнере располагались съемные пластиковые кармасы, которые пауки оплетали паутиной.

Шелк *Nephila pilipes* в основном собирали путем вытягивания. Паука усыпляли углекислым газом и укладывали брюшком вверх на пластину из пенопласта и фиксировали, прижимая конечности маленькими препаровальными иглами, не протыкая. Пинцетом захватывался кусочек паутины с прядильных бородавок. Шелк сматывали с помощью прядильного устройства, контролируя скорость ручную.

Подкожная имплантация паутины. В соответствии с рекомендациями стандарта ISO 10993-6:2016 [20] сроки оценки ранней тканевой реакции составляют от 7 до 14 суток, и в аналогичных исследованиях – от 7 дней [21-23]. В связи с тем, что наше исследование являлось пилотным, был выбран 7-дневный срок эксперимента. Мышей случайным образом разделили на 6 экспериментальных групп, различающихся типом имплантируемого материала, по 5 особей в каждой группе (табл. 1) [24-27]. Схематический дизайн эксперимента представлен на рисунке 1.

В асептических условиях животных наркотизировали золетил-ксилазиновым наркозом по следующей схеме: золетил 100 в дозе 0,3 мг в/м (10 мг/кг) («Virbac», Франция), ксиланит 0,8 мг в/м (5 мг/кг) (ЗАО «НИТА-ФАРМ», Россия, г. Саратов) из расчета на 100 г массы тела животного. Наркоз верифицировали по угнетению роговичного рефлекса и исчезновению реакции на болевые раздражители.

Материал был имплантирован подкожно в межлопаточную область. Диссекцией тупым способом с использованием бранш ножниц было сформировано подкожное ложе длиной около 1 см, в которое был введен имплантационный материал массой 0,5 мг (в количестве 50 волокон). Рана была послойно ушита рассасывающимся шовным материалом из полигликолевой кислоты 3-0 с применением атравматичной колющей иглы. После область хирургической раны так же обрабатывалась антисептическим средством. В послеоперационном периоде животные содержались в индивидуальных клетках со свободным доступом к пище и воде. Животные были выведены из эксперимента на 7-е сутки для последующей оценки воспалительной реакции. Эвтаназия в конце эксперимента выполнялась путем введения золетил-ксилазинового наркоза в дозировке, превыша-

ющей стандартную в два раза. Учет результатов проводился посредством микроскопической оценки степени заживления раны.

Гистологическое исследование. Кусочки ткани фиксировали в 10% забуференном нейтральном формалине. Затем была выполнена стандартная гистологическая обработка в изопропиловом спирте возрастающих концентраций, далее заключали в парафин (Биовитрум, РФ), изготавливали срезы толщиной 4 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином (Биовитрум, РФ). Стеклопрепараты были оцифрованы на сканирующем микроскопе Pannogamic 250 (3DHISTECH Ltd., Венгрия). Морфометрия была посчитана в программе CaseViewer (3DHISTECH Ltd., Венгрия). Результаты исследования были обработаны с применением статистического пакета Statistica 12.0 (StatSoft Inc, США). Нормальность распределения признаков в статистической выборке определялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Далее в расчетах применялись непараметрические методы. Для сравнений использовались критерии Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни. Показатели выражали в виде медианы Me и межквартильного интервала 25%-75%, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Таблица 1

Table 1

Группы экспериментальных животных
Groups of experimental animals

Группа Group	Название групп Group's name	Количество мышей Number of mice
1	Интактные мыши Intact animals	5
2	Контрольная группа (ложнооперированные) Sham-operated animals	5
3	Паутина вида <i>Chilobrachys dyscolus</i> Spider silk of <i>Chilobrachys dyscolus</i>	5
4	Паутина вида <i>Harpactira pulchripes</i> Spider silk of <i>Harpactira pulchripes</i>	5
5	Паутина вида <i>Monocentropus balfouri</i> Spider silk of <i>Monocentropus balfouri</i>	5
6	Паутина вида <i>Nephila pilipes</i> Spider silk of <i>Nephila pilipes</i>	5

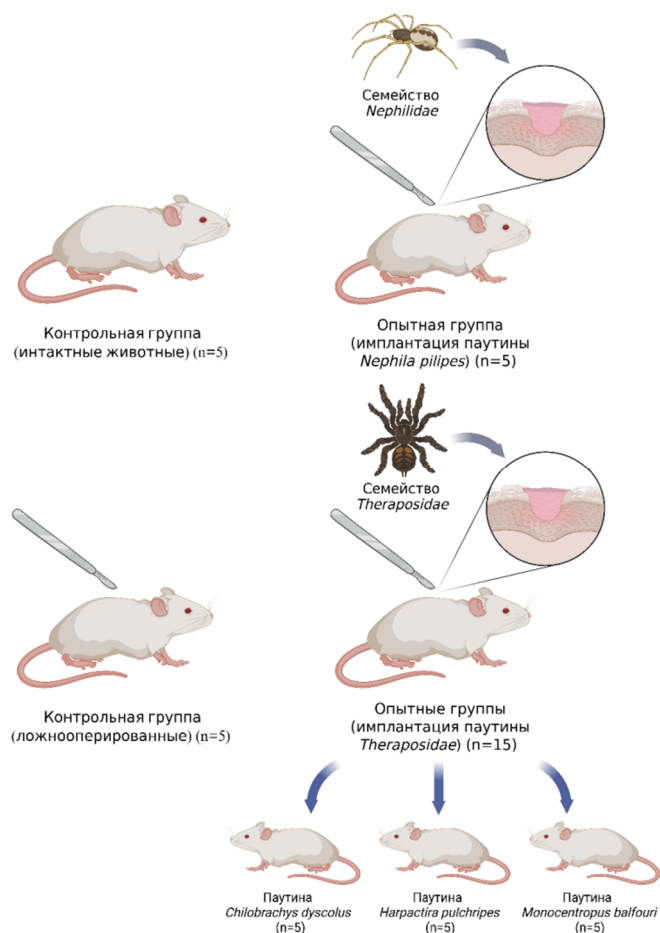


Рис. 1. Дизайн эксперимента. Иллюстрация создана с использованием онлайн-инструмента BioRender (<https://www.biorender.com/>).

Fig. 1. Design of experiment. Illustration created by free online tool BioRender (<https://www.biorender.com/>).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании проводилась морфологическая оценка реакции тканей на подкожную имплантацию натурального шелка паутины разных видов пауков с целью оценки ранней тканевой реакции. Оценка тканевой реакции является важным этапом подтверждения биосовместимости и безопасности биоматериала в соответствии с общепринятыми стандартами.

При микроскопической оценке во всех группах кроме интактной закономерно наблюдалась воспалительная реакция, представленная полиморфноядерной лейкоцитарной активностью и лимфоплазмацитарным инфильтратом (рис. 2). При этом на 7-е сутки эксперимента не визуализировались гигантские клетки инородных тел и отсутствовали эпителиоидные клетки, что свидетельствовало об отсутствии гранулематозного воспаления. При сравнительной микроскопической характеристике в группе контроля воспа-

лительная реакция была менее выражена, что может объясняться отсутствием инородного тела в виде паутины.

При детальном изучении было выявлено, что воспалительная активность формировалась вокруг нитей паутины, подвергая их фагоцитозу (рис. 3а-с). На микроскопическом уровне было выявлено, что внутри зоны воспалительной реакции у группы птицеедов вида *Chilobrachys dyscolus* происходило некротизирование участка с фагоцитированием паутины (рис. 3а). У некоторых мышей были отмечены некротические изменения с формированием тканевого детрита. В группе с шелком *Nephila pilipes* и *Monocentropus balfouri* вокруг паутины наблюдалась воспалительная реакция, представленная в основном инфильтратом из полиморфноядерных лейкоцитов, лимфоцитов и плазмоцитов без некротических изменений (рис. 3б, 3с).

Для морфометрической оценки периферической зоны воспаления на сканированных препаратах проводились 10 измерений толщины инфильтрата (рис. 4) от края области

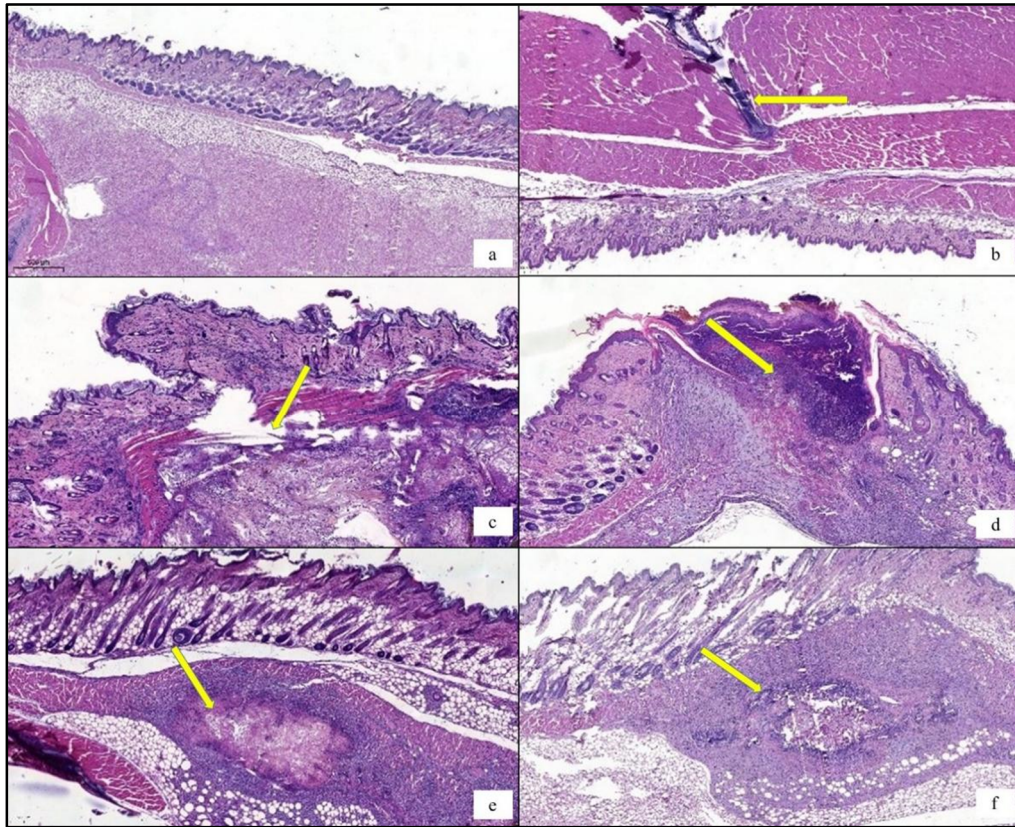


Рис. 2. Микрофотографии подкожной имплантации контрольных групп и различных видов паутины: а – intactные животные, б – ложнооперированные животные, с – *Chilobrachys dyscolus*, d – *Monocentropus balfouri*, e – *Harpactira pulchripes*, f – *Nephila pilipes*, желтая стрелка – область густой перифокальной воспалительной активности. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. $\times 50$.

Fig. 2. Microphotographs of subcutaneous implantation of various types of spider silk: a – intact animals, b – sham-operated animals, c – *Chilobrachys dyscolus*, d – *Monocentropus balfouri*, e – *Harpactira pulchripes*, f – *Nephila pilipes*, yellow arrow – area of dense perifocal inflammatory activity. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 50$.

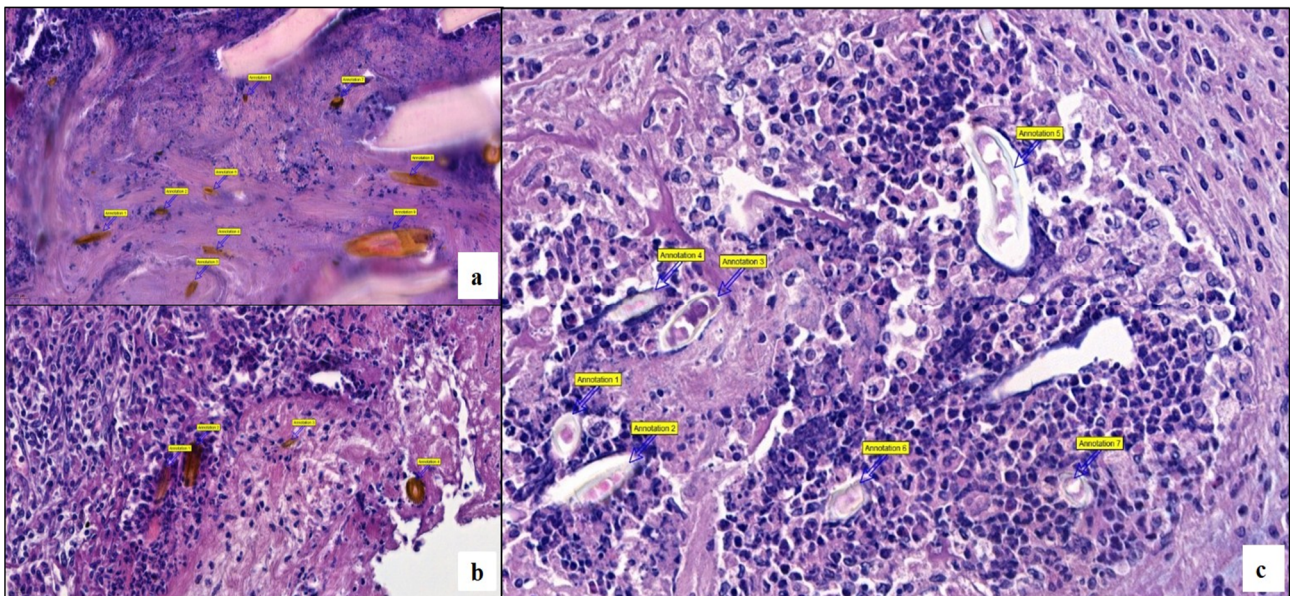


Рис. 3. Микрофотографии области имплантации с нитями паутины. Обозначения: а – *Chilobrachys dyscolus*, б – *Monocentropus balfouri*, с – *Nephila pilipes*, желтые метки – нити паутины. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. $\times 400$.

Fig. 3. Microphotographs of the implantation area with spider silk threads. Notations: a – *Chilobrachys dyscolus*, b – *Monocentropus balfouri*, c – *Nephila pilipes*, yellow marks – spider silk threads. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 400$.

имплантации до зоны окончания инфильтрата (табл. 2). По сравнению с контрольной группой в группах с шелком паутины *Chilobrachys dyscolus*, *Harpactira pulchripes* и *Nephila pilipes* было выявлено увеличение толщины перифокального воспаления в 1,3 раза ($p < 0,05$). При этом между экспериментальными группами морфометрический анализ значимых различий не выявил.

Согласно уже имеющимся научным исследованиям на моделях *in vivo* была выявлена слабая или умеренная воспалительная реакция в ответ на имплантацию паучьего шелка рода *Nephila*. Ранее проведенные исследования демонстрируют противоречивые результаты, однако подтверждают способность шелка паутины взаимодействовать с тканями организма. В работе Vollrath et al. на модели свиней была выявлена выраженная воспалительная реакция в ответ на подкожную имплантацию натурального шелка *Nephila clavipes* и *Brachypelma* [28]. Также в исследовании Коор и соавт. наблюдалось формирование гранулемы при использовании композитного каркаса из шелка *Nephila edulis* и фибриновой трубки, но только на модели повреждения спинного мозга у крыс [29]. Полученные нами данные о ранних стадиях воспаления согласуются с описанной в данных исследованиях тенденцией к развитию воспалительного ответа на данный биоматериал.

В то же время, ряд исследований подтверждают регенеративный потенциал паучьего шелка. В работе Allmeling et al. было показано, что шванновские клетки человека, культивируемые на волокнах шелка рода *Nephila*, сохраняли жизнеспособность, активно пролиферировали и формировали продольные структуры, что подтверждает его перспективность для тканевой

инженерии [30]. Спустя несколько лет в исследовании *in vivo* та же группа авторов подтвердила эти данные, обнаружив регенерацию аксонов в трансплантате, состоящем из нижней поллой вены и паучьего шелка [31]. Значительный вклад в изучение данного вопроса внесло исследование Radtke et al., в котором с помощью децеллюляризованного венозного трансплантата, заполненного волокнами шелка рода *Nephila*, удалось успешно восстановить 6-сантиметровый дефект периферического нерва у овцы [32].

Полученные нами результаты подтверждают данные литературы о выраженной воспалительной реакции в ответ на имплантацию. Однако отсутствие гигантских и эпителиоидных клеток в наших образцах свидетельствует о преобладании острого воспаления без формирования гранулем. Обращает на себя внимание, что при имплантации шелка паутины вида *Nephila pilipes* формировалась типичная воспалительная реакция, характерная для ранних сроков имплантации, состоящая из полиморфноядерных лейкоцитов, лимфоцитов и плазмочитов, тогда как при имплантации шелка паутины видов семейства *Theraphosidae* внутри воспалительной реакции происходило некротизирование участка с фагоцитированием паутины.

Данный эксперимент был проведен в качестве пилотного с целью оценки ранней тканевой реакции на имплантацию шелка паутины различных видов пауков для дальнейшего проведения долгосрочных исследований и выбора оптимального материала для применения в тканевой инженерии и регенеративной медицине.

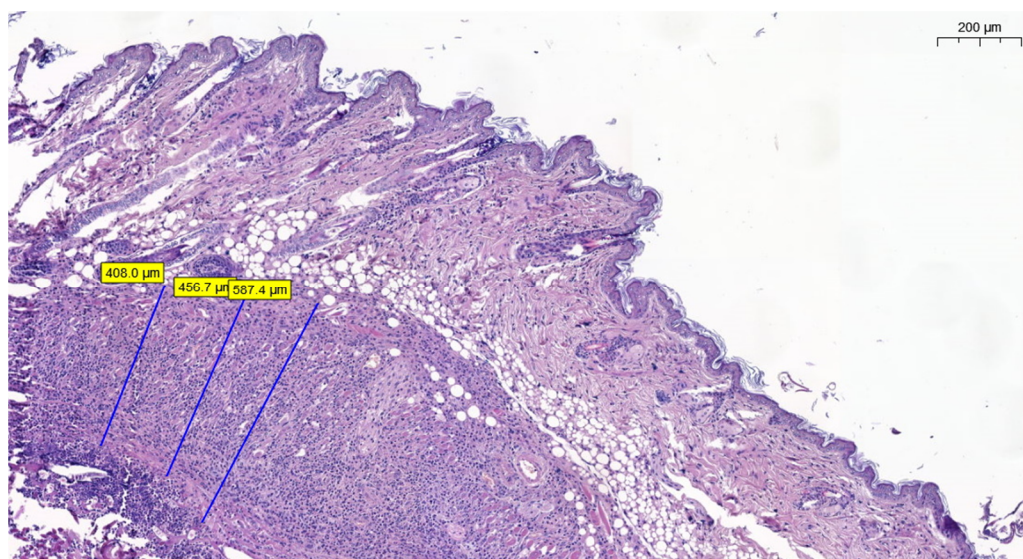


Рис. 4. Микрофотография области имплантации. Процесс измерения толщины воспалительного слоя. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. $\times 200$.

Fig. 4. Microphotographs of the implantation area. The process of measuring the thickness of the inflammatory zone. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 200$.

Сравнительная характеристика толщины воспалительной зоны около имплантата (Me (25-75%))

Comparison of the thickness of the inflammatory zone around the implant (Me (25-75%))

Группы Groups	Ложно- оперированные Sham-operated animals	<i>Chilobrachys dyscolus</i>	<i>Monocentropus balfouri</i>	<i>Harpactira pulchripes</i>	<i>Nephila pilipes</i>	H-критерий Краскела- Уоллиса Kruskal-Wallis H-test
Толщина воспалительного слоя, μm Thickness of the in- flammatory zone, μm	380,25 (337,6-428,35)	495,05 (455,1-583,25)*	404,8 (276,35-491,3)	480,25 (437,6-528,35)*	498,7 (442-556,5)*	H=11,39 p=0,0225

Примечание: * – достоверно различается при сравнении с контрольной группой (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Note: * – significantly different when compared with the control group (Mann-Whitney U-test, $p < 0.05$).

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Вся экспериментальная работа проводилась в соответствии с международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных в лабораторных условиях, Правилами проведения лабораторных доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96, ГОСТ 50258-92) и приказом Минздравсоцразвития России № 708н (23.08.2010) «Об утверждении правил проведения лабораторных исследований» (GLP). Проводимое научное исследование было одобрено Локальным Этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ № 3 от 12.03.2025 г. Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Директива 2010/63/EU) и Руководством по содержанию и уходу за лабораторными животными (ГОСТ 33215-2014).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Башкирского государственного медицинского университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Заманова Р.А. – разработка дизайна исследования, поиск и анализ публикаций по теме статьи, написание текста статьи, окончательное редактирование; Файрушина А.И. – анализ публикаций по теме, проведение подкожной имплантации паутины, наблюдение и уход за животными, окончательное редактирование; Власова А.О. – анализ морфологических данных, окончательное редактирование; Гладких А.Н. – наблюдение и уход за пауками, сбор паутины, окончательное редактирование.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем признательность заведующему лабораторией биопринтинга БГМУ Пятницкой С.В. и заведующему лабораторией морфологии БГМУ Щеки-

ну В.С. за научное консультирование статьи; младшему научному сотруднику лаборатории морфологии БГМУ Терегулову И.И. за пробоподготовку и оцифровывание стеклопрепаратов; ассистенту кафедры фармакологии БГМУ Корунас В.И. за проведение анестезиологического пособия.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gosline J.M., DeMont M.E., Denny M.W. The structure and properties of spider silk. *Endeavour*. 1986;10(1):37-43. DOI: 10.1016/0160-9327(86)90049-9.
- Ko F.K., Wan L.Y. Engineering properties of spider silk. *Handbook of Properties of Textile and Technical Fibres*. 2018:185-220. DOI: 10.1016/b978-0-08-101272-7.00006-7.
- Ko F.K., Kawabata S., Inoue M., Niwa M., Fossey S., Song J.W. Engineering Properties of Spider Silk. *MRS Proceedings*. 2001;702:U1.4.1. DOI: 10.1557/proc-702-u1.4.1.
- Vollrath F., Knight D.P. Liquid crystalline spinning of spider silk. *Nature*. 2001;410(6828):541-548. DOI: 10.1038/35069000.
- Kornfeld T., Vogt P., Bucan V., Peck C.-T., Reimers K., Radtke C. Characterization and schwann cell seeding of up to 15.0 cm long spider silk nerve conduits for reconstruction of peripheral nerve defects. *J Funct Biomater*. 2016;7(4):30. DOI: 10.3390/jfb7040030.
- Resch A., Wolf S., Mann A., Weiss T., Stetco A.-L., Radtke C. Co-culturing human adipose derived stem cells and schwann cells on spider silk—a new approach as prerequisite for enhanced nerve regeneration. *Int J Mol Sci*. 2018;20(1):71. DOI: 10.3390/ijms20010071.
- Roloff F., Strauss S., Vogt P.M., Bicker G., Radtke C. Spider silk as guiding biomaterial for human model neurons. *BioMed Res Int*. 2014;2014:906819. DOI: 10.1155/2014/906819.
- Kornfeld T., Nessler J., Helmer C., Hannemann R., Waldmann K.H., Peck C.T., Hoffmann P., Brandes G., et al. Spider silk nerve graft promotes axonal regeneration on long distance nerve defect in a sheep model. *Biomaterials*. 2021;271:120692. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120692.

9. Vernadakis A.J., Koch H., Mackinnon S.E. Management of neuromas. *Clin Plast Surg.* 2003;30(2):247-268. DOI: 10.1016/S0094-1298(02)00104-9.
10. Lee M., Guyuron B. Postoperative Neuromas. *Nerves and Nerve Injuries.* 2015;2:99-112. DOI: 10.1016/B978-0-12-802653-3.00056-7.
11. Булкина Н.В., Ведяева А.П., Иванов П.В., Гаврюшова Л.В. Биологические реакции организма на биоимплантаты. Обзор. *Клиническая стоматология.* 2016;2(78):46-49. [Bulkina N.V., Vedyayeva A.P., Ivanov P.V., Gavryushova L.V. Biologicheskiye reaktсии organizma na bioimplantaty. Obzor. *Klinicheskaya stomatologiya.* 2016;2(78):46-49 (in Russ.)]. EDN: VZXHAX.
12. Kastellorizios M., Tipnis N., Burgess D.J. Foreign Body Reaction to Subcutaneous Implants. *Immune Responses to Biosurfaces.* 2015;865:93-108. DOI: 10.1007/978-3-319-18603-0_6.
13. Anderson J.M., Rodriguez A., Chang D.T. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol.* 2008;20(2):86-100. DOI: 10.1016/j.smim.2007.11.004.
14. Kyriakides T.R., Bornstein P. Matricellular proteins as modulators of wound healing and the foreign body response. *Thromb Haemost.* 2003;90(6):986-992. DOI: 10.1160/TH03-06-0399.
15. Morais J.M., Papadimitrakopoulos F., Burgess D.J. Biomaterials/tissue interactions: possible solutions to overcome foreign body response. *AAPS J.* 2010;12(2):188-196. DOI: 10.1208/s12248-010-9175-3.
16. Namdari S., Melnic C., Huffman G.R. Foreign body reaction to acellular dermal matrix allograft in biologic glenoid resurfacing. *Clin Orthop Relat Res.* 2013;471(8):2455-2458. DOI: 10.1007/s11999-013-2904-z.
17. Nomoto K. Mechanism of the response of the living body to foreign material. *Allergy.* 1990;39(5):437-441.
18. Ibler B, Michalik P, Fischer K. Factors affecting lifespan in bird-eating spiders (Arachnida: Mygalomorphae, Theraphosidae) – A multi-species approach. *Zoologischer Anzeiger.* 2013;253(2):126–36. DOI: 10.1016/j.jcz.2013.09.004.
19. Boutry C., Blackledge T.A. Evolution of supercontraction in spider silk: structure-function relationship from tarantulas to orb-weavers. *J Exp Biol.* 2010;213(Pt 20):3505-3514. DOI: 10.1242/jeb.046110.
20. ISO 10993-6:2016 Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation.
21. Pucinelli C.M., Silva R.A.B.D., Borges L.L., Borges A.T.D.N., Nelson-Filho P., Consolaro A., Gaton-Hernández P., Silva L.A.B.D. Tissue Response after Subcutaneous Implantation of Different Glass Ionomer-Based Cements. *Brazilian Dental Journal.* 2019;30(6):599-606. DOI: 10.1590/0103-6440201902619.
22. Okamoto M., Matsumoto S., Moriyama K., Huang H., Watanabe M., Miura J., Sugiyama K., Hirose Y., et al. Biological Evaluation of the Effect of Root Canal Sealers Using a Rat Model. *Pharmaceutics.* 2022;14(10):2038. DOI: 10.3390/pharmaceutics14102038.
23. Kheiri L., Golestaneh A., Mehdikhani M., Razavi S.M., Etemadi N. Histological evaluation of subcutaneous tissue reactions to a novel bilayer polycaprolactone/silk fibroin/strontium carbonate nanofibrous membrane for guided bone regeneration: a study in rabbits. *Clin Exp Dent Res.* 2025;11(3):e70140. DOI: 10.1002/cre2.70140.
24. Pereira N.B., Campos P.P., Parreiras P.M., Chiarini-Garcia H., Socarrás T.O., Kalapothakis E., Andrade S.P., Moro L. Apoptosis, mast cell degranulation and collagen breakdown in the pathogenesis of loxoscelism in subcutaneously implanted sponges. *Toxicon.* 2014;84:7-18. DOI: 10.1016/j.toxicon.2014.03.003.
25. Alipour S., Omranipour R., Eslami B., Khalighfard S., Saberi A., Shabestari A., Alizadeh A.M. A pilot study of the use of human amniotic membrane as subcutaneous implants in a mouse model: a potential for temporary substitutes in two-stage breast reconstructions. *BMC Womens Health.* 2023;23(1):367. DOI: 10.1186/s12905-023-02531-9.
26. Kefayat A., Hosseini M., Ghahremani F., Jolfaie N.A., Rafienia M. Biodegradable and biocompatible subcutaneous implants consisted of pH-sensitive mebendazole-loaded/folic acid-targeted chitosan nanoparticles for murine triple-negative breast cancer treatment. *J Nanobiotechnology.* 2022;20(1):169. DOI: 10.1186/s12951-022-01380-2.
27. Henn D., Chen K., Maan Z.N., Greco A.H., Moortgat Illouz S.E., Bonham C.A., Barrera J.A., Trotsyuk A.A., et al. Cryopreserved human skin allografts promote angiogenesis and dermal regeneration in a murine model. *Int Wound J.* 2020;17(4):925-36. DOI: 10.1111/iwj.13349
28. Vollrath F., Barth P., Basedow A., Engström W., List H. Local tolerance to spider silks and protein polymers in vivo. *In Vivo.* 2002;16(4):229-234.
29. Koop F., Strauß S., Peck C.T., Aper T., Wilhelmi M., Hartmann C., Hegermann J., Schipke J., et al. Preliminary application of native *Nephila edulis* spider silk and fibrin implant causes granulomatous foreign body reaction in vivo in rat's spinal cord. *PLoS One.* 2022;17(3):e0264486. DOI: 10.1371/journal.pone.0264486.
30. Allmeling C., Jokuszies A., Reimers K., Kall S., Vogt P.M. Use of spider silk fibres as an innovative material in a biocompatible artificial nerve conduit. *J Cell Mol Med.* 2006;10(3):770-777. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2006.tb00436.x.
31. Allmeling C., Jokuszies A., Reimers K., Kall S., Choi C.Y., Brandes G., Kasper C., Schepert T., et al. Spider silk fibres in artificial nerve constructs promote peripheral nerve regeneration. *Cell Prolif.* 2008;41(3):408-420. DOI: 10.1111/j.1365-2184.2008.00534.x.
32. Radtke C., Allmeling C., Waldmann K.H., Reimers K., Thies K., Schenk H.C., Hillmer A., Guggenheim M., et al. Spider silk constructs enhance axonal regeneration and remyelination in long nerve defects in sheep. *PLoS One.* 2011;6:e16990. DOI: 10.1371/journal.pone.0016990.

Поступила в редакцию 30.04.2025
Подписана в печать 25.10.2025

Для цитирования: Заманова Р.А., Файрушина А.И., Власова А.О., Гладких А.Н. Морфологическая оценка ранней тканевой реакции на подкожную имплантацию шелка паутины (пилотное исследование). *Человек и его здоровье*. 2025;28(3):16–24. DOI: 10.21626/vestnik/2025-3/02. EDN: GTSNSE.

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF TISSUE RESPONSE TO SUBCUTANEOUS IMPLANTATION OF SPIDER SILK

© Zamanova R.A., Fairushina A.I., Vlasova A.O., Gladkikh A.N.

Bashkir State Medical University (BSMU)

3, Lenina Str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450008, Russian Federation

Objective – to evaluate the early tissue response to implantation of different types of spider silk in mice.

Materials and methods. The pilot study was conducted on 30 white mature male BALB/c mice (20±5 g) divided into 6 groups: intact animals, sham-operated animals (control), and 4 groups with spider silk implantation. The spiderweb was collected by pulling or from frames. Implantation was performed under zoletil-xylazine anesthesia, the material was placed subcutaneously in the interscapular area. After 7 days, the histology by hematoxylin-eosin staining and the thickness of the inflammatory infiltrate were assessed.

Results. Histological examination of tissues revealed an inflammatory reaction in all experimental groups and was characterized by polymorphonuclear leukocyte activity and lymphoplasmacytic infiltrate. By the 7th day of the experiment, foreign body giant cells and epithelioid cells were absent, indicating the absence of a granulomatous reaction. Morphometric assessment of the thickness of the perifocal inflammation zone showed a statistically significant increase in the thickness of the infiltrate in the groups with *Chilobrachys dyscolus*, *Harpactira pulchripes*, and *Nephila pilipes* spider silk compared to the control group. However, no differences were found between the experimental groups.

Conclusion. All studied types of spiderweb caused acute inflammation with polymorphonuclear leukocyte infiltration without granulomatosis. No statistically significant differences in the severity of the reaction between different types of silk were found.

Keywords: spider silk; foreign body reaction; early tissue reaction.

Zamanova Rozalia A. – junior researcher of the Bioprinting Laboratory of the Institute of Fundamental Medicine, BSMU, Ufa, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0003-2986-5251. E-mail: razamanova@bashgmu.ru (corresponding author).

Fairushina Adelia I. – junior researcher of the Bioprinting Laboratory of the Institute of Fundamental Medicine, BSMU, Ufa, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0006-3082-941X. E-mail: adelia_ildariovna@mail.ru

Vlasova Angelina O. – junior researcher of the Morphology Laboratory of the Institute of Fundamental Medicine, BSMU, Ufa, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0002-1818-5077. E-mail: aovlasova@bashgmu.ru

Gladkikh Aleksandr N. – biologist of the Additive Technologies Laboratory of the Institute of Digital Medicine, BSMU, Ufa, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0007-0153-3561. E-mail: angladkikh@bashgmu.ru

COMPLIANCE WITH PRINCIPLES OF ETHICS

All experimental work was carried out in accordance with international recommendations of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes; with the Rules for Conducting Laboratory Preclinical Studies in the Russian Federation (GOST 3 51000.3-96 and 51000.4-96, GOST 50258-92) and the Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia No. 708n (08/23/2010) "The rules for conducting laboratory studies" (GLP). The study was approved by the Local Ethics Committee of BSMU (Protocol No. 3 dated March 12, 2025). The animals were kept in accordance with the rules of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Directive 2010/63/EU) and the Guidelines for the care and maintenance of laboratory animals (GOST 33215-2014).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

This work was supported by the Bashkir State Medical University Strategic Academic Leadership Program (PRIORITY-2030).

AUTHORS CONTRIBUTION

Zamanova R.A. – development of the concept and design of the study, literature review, text preparation, final editing of article; Fairushina A.I. – literature review, performing subcutaneous implantation, care of animals, final editing of article; Vlasova A.O. – performing morphological research, final editing of article; Gladkikh A.N. – care of spiders, collection of spider silk, final editing of article.

ACKNOWLEDGMENTS

To the head of the bioprinting laboratory of BSMU Pyatnitskaya S.V. and the head of the morphology laboratory of BSMU Shchekin V.S. for scientific consulting of the article; to the junior researcher of the morphology laboratory of BSMU Teregulov I.I. for sample preparation and digitization of glass slides; to the assistant of the pharmacology department of BSMU Korunas V.I. for providing anesthesiological care.

Received 30.04.2025

Accepted 25.10.2025

For citation: Zamanova R.A., Fairushina A.I., Vlasova A.O., Gladkikh A.N. Morphological assessment of tissue response to subcutaneous implantation of spider silk. *Humans and their health*. 2025;28(3):16–24. DOI: 10.21626/vestnik/2025-3/02. EDN: GTSNSE.