

Zpracování sericinu a jeho aplikace ve farmacii a medicíně

Andrea Holubová, DiS.

Bakalářská práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Andrea Holubová**
Osobní číslo: **T20486**
Studijní program: **B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace: **Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Zpracování sericinu a jeho aplikace ve farmacii a medicíně**

Zásady pro vypracování

- Vypracujte literární rešerši na téma zpracování sericinu a jeho aplikace ve farmacii a medicíně.
- V rešerši se zaměřte na způsoby izolace hedvábného proteinu sericinu a možnosti jeho zpracování.
- Popište strukturní a biologické vlastnosti sericinu.
- Popište možné aplikace sericinu ve farmaceutickém průmyslu a lékařství.
- Poznatky získané z literatury diskutujte a uveďte hlavní závěry plynoucí z provedené studie.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

1. Ahsan, F. et al., An Insight On Silk Protein Sericin: From Processing To Biomedical Application. *Drug Research* **2018**, *68* (06), 317-327. <https://doi.org/10.1055/s-0043-121464>.
2. DeBari, M. K et al., Silk Fibroin As A Green Material. **2021**, *7* (8), 3530-3544. <https://doi.org/10.1021/acsbio.1c00493>.
3. Chouhan, D.; Mandal, B. B. Silk Biomaterials In Wound Healing And Skin Regeneration Therapeutics: From Bench To Bedside. *Acta Biomaterialia* **2020**, *103*, 24-51. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.11.050>.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Karolína Kocourková, Ph.D.**
Ústav fyziky a mater. inženýrství

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2024**

Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORKY BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studentky: Andrea Holubová

.....
podpis studentky

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce pojednává o způsobech získávání hedvábného proteinu sericinu, jeho vlastnostech a možnostech využití v oblastech regenerativní medicíny a farmacie. Podstatná část této rešerše je věnována možnostem zpracování sericinu. Popsány jsou různé metody jeho izolování, zohledněny jsou rovněž benefity i nevýhody těchto metod. Stěžejní částí je souhrn nejvýznamnějších biologických vlastností tohoto proteinu, které přispívají k jeho potenciálnímu využití v lékařství a farmacii. Uvedeny jsou dále různé formy sericinu, jako jsou filmy, hydrogely, konduity, scaffoldy nebo nanočástice a konkrétní potenciální uplatnění hedvábného proteinu v oboru tkáňového inženýrství a systémech dodávání léčiv. Provedená studie poukazuje na široké možnosti využití původně odpadního produktu textilní výroby v medicínském i farmaceutickém odvětví, avšak pro naplnění potenciálu tohoto materiálu je nezbytný další vývoj v možnostech jeho extrakce.

Klíčová slova: hedvábí, bourec morušový, sericin, biomateriály, tkáňové inženýrství, dodávání léčiv

ABSTRACT

This bachelor's thesis discusses the methods of obtaining the silk protein sericin, its properties and its potential applications in the fields of regenerative medicine and pharmacy. A substantial part of this research is devoted to the processing methods of sericin. Various isolation techniques are described, the benefits and disadvantages of these methods are also considered. The key part is a summary of the most important biological properties of this protein, which contribute to its potential use in medicine and pharmacy. Additionally, various forms of sericin, such as films, hydrogels, conduits, scaffolds or nanoparticles, and specific potential applications of silk protein in the field of tissue engineering and drug delivery systems are presented. The conducted study points to the wide-ranging possibilities for utilizing this originally waste product from the textile industry in the medical and pharmaceutical sectors. However, to fully exploit the potential of this material, further development in its extraction methods is necessary.

Keywords: silk, silkworm, sericin, biomaterials, tissue engineering, drug delivery

Tímto bych ráda poděkovala především své vedoucí práce, doktorce Karolíně Kocourkové, za její čas, podporu a cenné připomínky při psaní práce a také mé dceři, která pro mě byla velkou oporou a motivací po celou dobu studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
1 CÍLE PRÁCE	10
2 PŘÍRODNÍ HEDVÁBÍ	11
2.1 PRODUKCE HEDVÁBNÉHO VLÁKNA	11
2.2 ŽIVOTNÍ CYKLUS BOURCE MORUŠOVÉHO.....	12
2.3 TVORBA HEDVÁBNÉHO VLÁKNA	13
2.4 CHEMICKÉ SLOŽENÍ HEDVÁBÍ.....	14
3 SERICIN	16
3.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ.....	16
3.2 FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI	17
4 ZÍSKÁVÁNÍ SERICINU	19
4.1 CHEMICKÉ METODY	19
4.2 FYZIKÁLNÍ METODY	20
4.3 ENZYMATICKÉ METODY	20
5 VLASTNOSTI SERICINU PRO MEDICÍNSKÉ A FARMACUETICKÉ APLIKACE	22
5.1 BIODOSTUPNOST A IMUNOGENITA	22
5.2 BIOLOGICKÁ ODBOURATELNOST	22
5.3 PROTIZÁNĚTLIVÁ AKTIVITA	23
5.4 ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA.....	24
5.5 ANTIOXIDAČNÍ A FOTOPROTEKTIVNÍ AKTIVITA	24
5.6 PROTINÁDOROVÁ AKTIVITA	25
5.7 METABOLICKÉ ÚČINKY V GASTROINTESTINÁLNÍM TRAKTU	26
5.8 SNÍŽENÍ KREVNÍHO TLAKU A ANTIKOAGULAČNÍ POTENCIÁL	27
6 TYPY BIOMATERIÁLOVÝCH FORMÁTŮ NA BÁZI SERICINU	29
6.1 FILMY.....	29
6.2 HYDROGELY.....	29
6.3 SCAFFOLDY	30
6.4 NERVOVÉ KONDUITY.....	31
6.5 NANOČÁSTICE	31
6.6 MIKROČÁSTICE	32
7 SERICIN V TKÁŇOVÉM INŽENÝRSTVÍ	35
7.1 PODPORA HOJENÍ RAN	35
7.2 KOSTNÍ TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ.....	36

7.3	BIOMATERIÁLY NA BÁZI SERICINU PRO JINÉ TKÁNĚ.....	37
8	SYSTÉM DODÁVÁNÍ LÉČIV	39
9	PERSPEKTIVA SERICINU	41
ZÁVĚR	43
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	44
SEZNAM OBRÁZKŮ	56
SEZNAM TABULEK.....	57

ÚVOD

V poslední době stoupá zájem o výzkum a následné využití biomateriálů z přírodních zdrojů, které se mohou použít v různých aplikacích v odvětví farmacie a medicíny.

Hedvábný sericin, protein získávaný z kokonů bource morušového, je intenzivně zkoumán pro svou výjimečnou biologickou aktivitu a možnost úpravy svých chemických a fyzikálních vlastností. Díky své biokompatibilitě a přirozené schopnosti adheze k buňkám umožňuje sericin buňkám přilnout, množit se a specificky se vyvíjet v rámci sericinových materiálů. Jeho složení obsahuje rozmanité funkční skupiny, které lze chemicky upravit a vytvářet tak různorodé konstrukce vhodné pro biomedicínské použití. Sericin byl nedávno integrován do široké škály biomateriálů určených pro tkáňové inženýrství a regenerativní medicínu, včetně rozličných trojrozměrných struktur (filmy, hydrogely, nosné materiály a konduity) a mikro-nano forem.

Teoretická bakalářská práce uvádí přehled a souhrn možností získávání hedvábného sericinu a jeho následné uplatnění v oborech jako je tkáňové inženýrství nebo farmacie. První část je věnována obecným poznatkům o přírodním hedvábí, jsou také uvedeny zdroje hedvábného vlákna, jeho tvorba a složení. Další část prezentuje přehled a sumarizaci základních chemických a fyzikálních vlastností sericinu. Významnou kapitolou jsou možnosti získávání a zpracování sericinu, které jsou dále rozděleny dle způsobu jejich provedení. Stěžejní částí je pak přehled biologických vlastností sericinu, zejména jeho biokompatibility, odbouratelnosti, antibakteriálních a antioxidačních vlastností. Následující oddíl je zaměřen na formy sericinu jako biomateriálu pro použití v lékařství a farmacii. V návaznosti na tyto morfologie je dále konkrétně popisováno využití v oblasti tkáňovém inženýrství a dodávání léčiv. V závěru této práce je hodnocena perspektiva pro budoucí užití sericinu jakožto slibného biomateriálu.

1 CÍLE PRÁCE

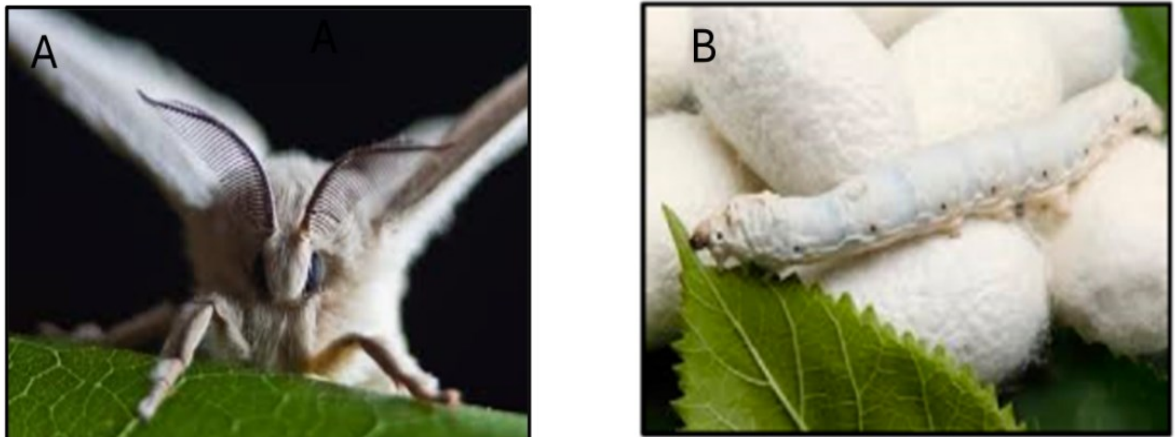
Cílem této teoretické bakalářské práce je poskytnout souhrnný přehled o základních chemických a biologických vlastnostech hedvábného sericinu. Dále popsat různé metody izolace sericinu z hedvábných kokonů a srovnat výhody a nevýhody jednotlivých metod. Uvést možnosti zpracování a formy sericinu pro aplikace v různých odvětvích regenerativní medicíny a farmacie. Diskutovat budoucí potenciál tohoto materiálu v této oblasti a možné limity, které je třeba překonat.

2 PŘÍRODNÍ HEDVÁBÍ

Hedvábí patří mezi nejstarší a nejluxusnější textilie vůbec. Historie jeho produkce sahá až do starověkého Číny. Během 3. a 4. stol. př.n.l. se Čína stala dominantním producentem hedvábí a byla jedinou zemí, která věděla, jak ho vyrábět. Hedvábí bylo považováno za tolik cenné, že bylo používáno jako platební prostředek. Začátkem 5. stol. se hedvábí rozšířilo i do jiných částí Asie a Evropy. V 8. stol. byly výrobky z hedvábí tak oblíbené, že byly dováženy do Evropy a získaly svou popularitu, která přetrvává dodnes. [1] Hedvábí má širokou škálu vlastností, které jej činí chvályhodným pro použití v textilním odvětví. Významná je jeho pevnost, elasticita, barvitelnost, měkkost, pružnost, lesk a vysoká elegance. Použití hedvábí jako materiálu v lékařských aplikacích má rovněž dlouhou historii a lze jej vysledovat až do Římské říše, kdy se hedvábí používalo jako šicí nit. Vzhledem k tomuto zavedenému užívání v lékařství a vynikající biologickým vlastnostem je hedvábí považováno za slibný přírodní materiál pro biomedicínské aplikace, zejména pro zpracování v tkáňovém inženýrství. Jeho vlastnosti jsou v současné době vědecky dále zkoumány, zdokonalují se možnosti jeho získávání a následné použití v oblastech farmacie i medicíny. [2]

2.1 Produkce hedvábného vlákna

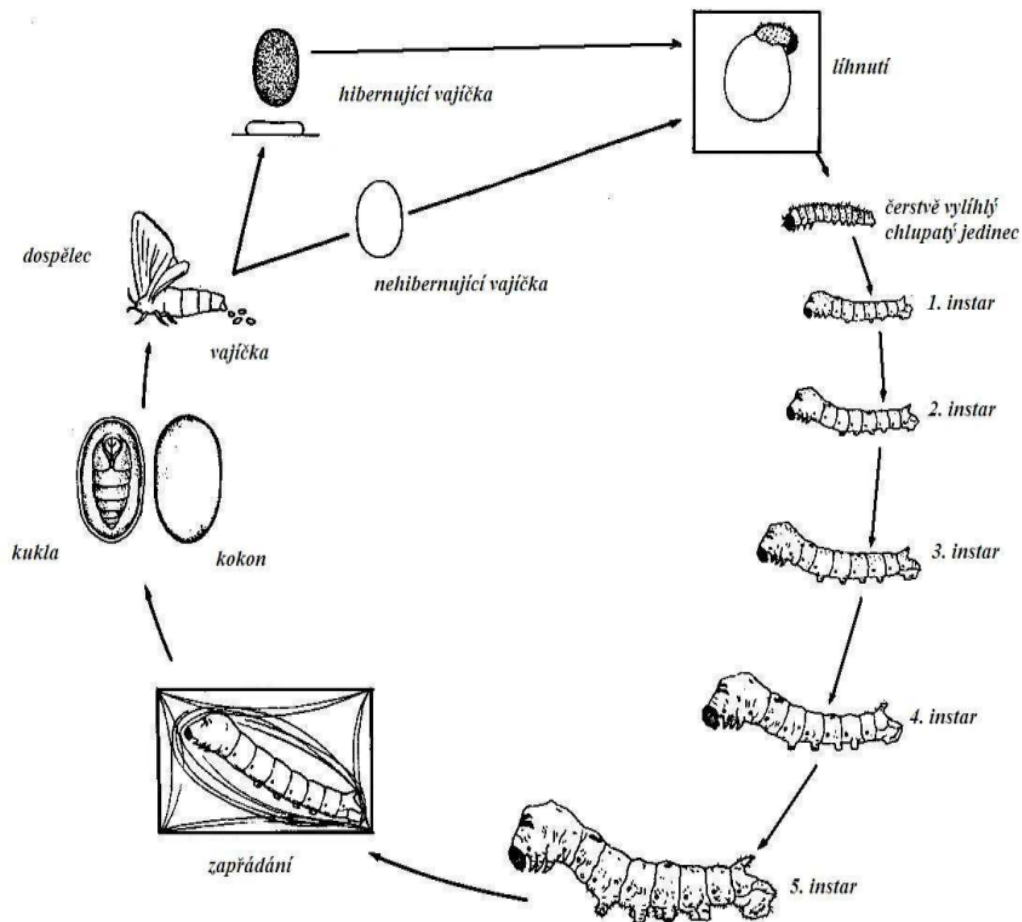
Přírodní hedvábí je produkováno řadou členovců patřících do čeledí *Bombycidae*, *Lasiocampidae* a *Saturniidae*. Speciálním typem je hedvábí produkováno některými druhy pavouků. Nejčastěji je hedvábí získáváno z hedvábných kokonů nočního motýla bource morušového, *Bombyx mori* z čeledi *Bombycidae*, [3] (Obrázek 1). [4] Protože housenka bource vylučuje vlákno použitelné jako textilní materiál s vynikajícími vlastnostmi, je původně volně žijící hmyz už asi 2000 let domestikován. Chov bource, tzv. serikultura, je považována za jednu z nejstarších zemědělských odvětví a spočívá v pěstování morušovníků a šlechtění bource morušového, jehož cílem je vytvoření kvalitního kokonu jako zdroje vláken pro textilní krejčovství. [5]



Obrázek 1: Zdroje hedvábného vlákna. (A) Bourec morušový, (B) housenka bource morušového a kokony [4]

2.2 Životní cyklus Bource morušového

Bourec morušový patří mezi holometabolní hmyz, vyznačuje se nepřímým vývinem s dokonalou metamorfózou. Ve svém životě prochází přes čtyři vývojová stádia: vajíčko, larva, kukla a dospělý jedinec (Obrázek 2). [6] První fází metamorfózy je produkce vajíček. Samice bource klade současně 300 až 400 vajíček a hned poté umírá. Samec žije po této události o něco déle. Druhá larvální fáze se skládá z pěti stádií neboli instarů. V této fázi se vajíčka inkubují přibližně po dobu deseti dní, dokud se z nich nevylíhnou larvy. Ty jsou poté krmeny listy moruše, aby si uchovaly dostatek živin a také aby mohly pětkrát svléknout kůži. Toto období trvá čtyři až šest týdnů, dokud se nevytvoří stádium housenky. Následuje fáze kukly, která začíná stavbou zámotků neboli kokonů, hned po dokončení období krmení. Cílem tohoto kokonu je chránit kuklu před mikrobiální degradací, přirozeným vysycháním během metamorfózy a před potenciálními predátory. Hedvábná housenka kolem sebe spřádá kokon a neustále pohybuje hlavou, čehož je dosaženo cyklickým ohýbáním a protahováním jejího těla. Tvorba takového kokonu trvá přibližně tři dny. Poté kokon získává elipsoidní tvar s nejmenší tloušťkou na svých dvou koncích. Tyto body jsou propíchnuty alkalickou látkou vylučovanou samotným bourcem, což umožňuje, aby se z kukly stal dospělý jedinec a metamorfóza byla dokončena. [7; 8]



Obrázek 2: Životní cyklus bource morušového (částečně upraveno) [6]

2.3 Tvorba hedvábného vlákna

Bourec morušový syntetizuje hedvábné vlákno v labiálních žlázách, běžně označovaných jako hedvábné žlázy, což jsou dlouhé a párové útvary. Tyto exokrinní žlázy jsou anatomicky a fyziologicky rozděleny do tří částí. Přední hedvábná žláza, která tvoří vylučovací kanál a obsahuje zhruba 200 vylučovacích buněk; střední hedvábná žláza, dlouhá asi 7 cm a tvořena přibližně 300 buňkami, která vylučuje tři typy sericinu; a zadní hedvábná žláza, produkující fibroin, která je asi 15 cm dlouhá a má okolo 500 buněk. Ve střední části hedvábné žlázy dochází k vylučování sericinu, který se okamžitě usazuje kolem fibroinu.

Hedvábné vlákno se tak skládá ze tří vrstev sericinu a dvou vláken fibroinu, které vycházejí z každé hedvábné žlázy. Proteiny se uvolňují do lumenu žlázy ve formě roztoku a postupně

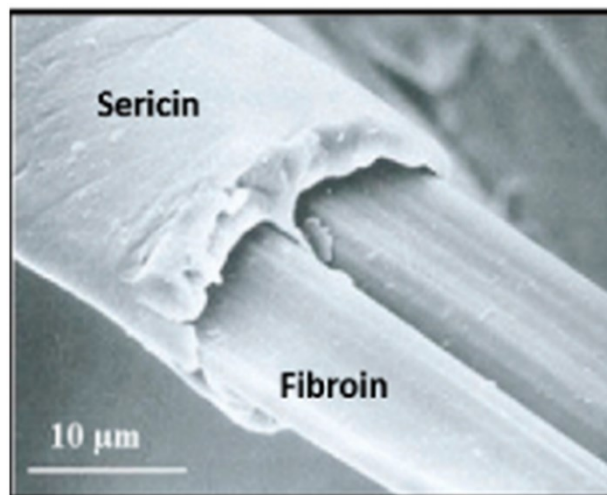
se sbíhají ve střední oblasti, kdy se začne absorbovat voda ze žlázy a vytváří se roztok podobný gelu, který vykazuje vlastnosti tekutých krystalů. Při transportu proteinové směsi předním kanálem dále dochází ke snížení množství vody. Krystalický roztok se následně zpevňuje a na výstupu ze sprádacího kanálu se roztok mění v pevné vlákno. Výroba kokonu je proces, kdy se zvětší postupně lepší fibroinová vlákna pomocí lepivého sericinu. Zámotek je složen z dlouhých kontinuálních hedvábných vláken, jejichž délka se pohybuje mezi 900 až 1500 metry. Díky milionům let vývoje jim tato struktura poskytuje ochranu proti nepříznivým vlivům okolního prostředí i útokům živočichů, jako jsou ptáci, hmyz a bakterie. [9; 10]

2.4 Chemické složení hedvábí

Hedvábné vlákno se z chemického hlediska skládá především z fibroinu (70–80 %) a sericinu (20–30 %). Obsahuje i dalších látky, jako jsou sacharidy, anorganická hmota, vosková hmota a pigmenty (Tabulka 1). [11] Struktura jádra hedvábných vláken je tvořena fibroinem, což je hydrofobní vláknitý protein se semikrystalickou strukturou pro podporu tuhosti a pevnosti vlákna. Sericin je globulární hydrofilní protein, který působí jako vnější gumovitá část, která spojuje fibroinová vlákna. (Obrázek 3) [4] Hedvábí je díky sericinu hrubé a soudržné. Po jeho oddělení od fibroinu jsou vlákna hedvábí jemná, lesklá a zvyšuje se jejich barvitelnost. [12]

Tabulka 1: Složky hedvábného vlákna. [11]

Složka hedvábí	(%)
Fibroin	70-80
Sericin	20-30
Sacharidy	1,2-1,6
Vosková hmota	0,4-0,8
Anorganická hmota	0,6-0,7
Pigment	0,2-0,3



Obrázek 3: Struktura hedvábného vlákna [4]

3 SERICIN

Sericin jako vedlejší produkt při výrobě hedvábí nabývá na významu v různých oblastech vědy, farmacie, medicíny i potravinářství. Fyzikálně-chemické vlastnosti molekuly jsou vhodné pro mnoho biomedicínských aplikací. Přítomnost vysoce hydrofobních aminokyselin a jejich antioxidační potenciál umožňuje použití sericinu v potravinářském a kosmetickém průmyslu. Zvlhčující účinek umožňuje použití jako terapeutického činidla pro hojení ran, stimulaci buněčné proliferace, ochranu před ultrafialovým zářením a výrobu krémů a šamponů. Významný antioxidační účinek sericinu umožňuje jeho využití v lékařství, jako protinádorového, antimikrobiálního a protizánětlivého činidla, antikoagulantu, ovlivňuje zdraví tlustého střeva, eliminuje zácpu a chrání tělo před obezitou. Kromě toho zpracovatelské vlastnosti sericinu umožňují jeho aplikaci v tkáňovém inženýrství a dodávání léčiv, což zdůrazňuje jeho hodnotu jako klíčového materiálu v biomedicíně. [13]

3.1 Chemické složení

Molekula je vysoce hydrofilní, složená z 18 aminokyselin (Tabulka 2) [14; 15; 16], které obsahují hydroxylové, karboxylové a aminoskupinové polární postranní řetězce, které se mohou podílet na kopolymeraci, zesíťování a umožňují tvorbu směsí s jinými polymery. Souhrnný podíl hydroxyaminokyselin, polárních aminokyselin a nepolárních aminokyselin činí 45,8 %, 42,3% a 12,2 %. Mezi tyto kyseliny patří serin, kyselina asparagová, glycin, arginin, alanin, fenylalanin, leucin, valin, izoleucin, prolin, threonin, kyselina glutamová, histidin, lysin, methionin, tyrosin, cystein a tryptofan. Nejvýznamnějšími z těchto složek jsou serin (32 %), kyselina asparagová (18 %) a glycin (16 %). [17] Minoritní složení sericinu zahrnuje pigmenty, vosky, cukry, minerální soli a nečistoty. Organické složení sericinu je 6,5 % uhlíku, 31 % kyslíku, 16,5 % dusíku a 6 % vodíku. Toto biochemické složení propůjčuje sericinu důležité biologické vlastnosti, jako je biokompatibilita, antibakteriální aktivita, antioxidační a hydratační schopnosti. [18]

Tabulka 2: Distribuce aminokyselin v sericinu [14; 15; 16]

Aminokyselina	Terada <i>et al.</i> [14]	Aramwit <i>et al.</i> [15]	Keawkorn <i>et al.</i> [16]
	Mol. %	Mol. %	Mol. %
Serin	32.2	33.63	33.4
Kyselina asparagová	18	15.64	16.7
Glycin	15.7	15.03	13.5
Threonin	8.4	8.16	9.7
Alanin	5.3	4.10	6.0
Glutaman sodný	4.6	4.61	4.4
Tyrozín	3.7	3.45	2.6
Valin	3.6	2.88	2.8
Lysin	2.5	2.35	3.3
Arginin	1.8	2.87	3.1
Histidin	1.3	1.06	1.3
Leucin	1.1	1.00	1.1
Isoleucin	0.7	0.56	0.7
Prolin	0.6	0.54	0.7
Fenylalanin	0.4	0.28	0.5
Methionin	<0.05	3.39	0.04
Cystin	<0.05	0.44	0.2
Tryptofan	0	0	0.2

3.2 Fyzikální vlastnosti

3.2.1 Rozpustnost a molekulová hmotnost

Sericin je mírně rozpustný v horké vodě, ale málo rozpustný ve studené vodě. Rozpustnost lze vysvětlit na základě rozdílů ve struktuře této látky. V roce 1951 byl sericin rozdělen do tří frakcí (A, B a C) na základě jeho rozpustnosti a molekulové hmotnosti. [19] Sericin A je nejrozpustnější ve srovnání s ostatními frakcemi a nachází se ve vnější vrstvě kokonu. Obsahuje 17,2 % dusíku a převažující aminokyseliny jsou threonin, serin, kyselina asparagová a glycin. Mezivrstva obsahuje frakci sericinu B, která je mírně rozpustná a obsahuje 16,8 % dusíku. Tato frakce obsahuje také tryptofan a běžné aminokyseliny přítomné v sericinu A. Třetí a poslední frakce se nachází vedle fibroinu v nejnějnější vrstvě kokonu. Tato frakce není rozpustná v horké vodě a obsahuje nižší obsah dusíku

(asi 16,6 %). Kromě prolinu obsahuje všechny ostatní aminokyseliny přítomné v sericinech A a B.

S ohledem na molekulovou hmotnost, která se pohybuje od 20 do 400 kDa a je zcela závislá na typu extrakce, Takasu *et. al.* [20] klasifikovali sericin na základě místa jeho syntézy v centrální oblasti hedvábné žlázy, na sericiny A, M a P, které obsahují tři důležité proteínové polypeptidy. Sericiny P a M jsou kódovány genem Ser 1 a tvoří první a druhou sericinovou vrstvu, která obaluje fibroin. Gen Ser 3 kóduje sericin A, který se většinou nachází ve filamentu a vnější vrstvě pouzdra. [21]

3.2.2 Schopnost tvorby gelu

Sericin má schopnost tvořit gel při nízkých teplotách kolem 10 °C a při pH hodnotě asi 6–7. Tato vlastnost sericinu je způsobena změnou jeho struktury z náhodně stočené konformace na konformaci β -skládaného listu. Když je sericin zahřátý na teplotu 50 až 60 °C a poté ochlazen, schopnost tvořit gel se stává reverzibilní. Dalším faktorem, který ovlivňuje gelační schopnost, je povrchové napětí. Pokles povrchového napětí způsobuje zvýšení gelovacích vlastností sericinu. [22]

3.2.3 Izoelektrický bod

Na základě výzkumu byl identifikován izoelektrický bod, který je označován jako pH, při kterém molekula nenes žádný náboj. Jinými slovy, v izoelektrickém bodě je molekula elektricky neutrální. V případě sericinu se izoelektrický bod nachází v rozmezí 5.5 až 5.8. Tento rozsah může být způsoben vyšším podílem kyselých aminokyselin než zásaditých a neutrálních aminokyselin, což vede k posunu izoelektrického bodu směrem ke kyselé straně. [23]

4 ZÍSKÁVÁNÍ SERICINU

Existuje řada způsobů, jak sericin izolovat. První možností je extrahovat protein přímo z hedvábné žlázy bource morušového, dalším způsobem je získávání z jeho kokonu. Tento způsob extrakce zvaný degumming je zcela závislý na schopnosti sericinu rozpouštět se ve vodě a je hojně průmyslově využíván. Během tohoto procesu dochází pomocí hydrolyzy sericinu k rozrušení peptidových vazeb a sericin tak může být separován od fibroinu. Extrakce sericinu z hedvábí je možná, neboť fibroin je hydrofobní a nerozpustný ve vodě, zatímco sericin je hydrofilní a může být tedy rozpuštěn ve vodě. Proces degummingu je prováděn různými metodami s cílem získání nejlepší kvality proteinu. Nejčastěji se využívají metody fyzikální, chemické a enzymatické (Tabulka 3). Všechny tyto metody mohou být modifikovány ve vztahu k teplotě, času, použitým chemickým přísadám nebo koncentraci roztoku. Je důležité poznamenat, že metoda a způsob extrakce sericinu z hedvábí ovlivňuje nejen jeho výtěžnost a molekulovou hmotnost, ale také jeho fyzikální, chemické a mechanické vlastnosti, které pak určují biologické vlastnosti získaného sericinu. [24]

4.1 Chemické metody

Metody na chemické bázi se výhradně odvíjí od rozpustnosti sericinu ve vodě. V tradičním procesu degummování se při výrobě hedvábí běžně používá hydrogen uhličitán sodný, marseillské mýdlo nebo vroucí roztok s alkálií. Degumming pomocí marseillského mýdla nebo uhličitanu sodného se provádí při teplotě 82-98 °C, délka jeho trvání je zhruba 120 minut a rozdíl v hmotnosti vlákna před a po procesu je zhruba 12-27 %. Zápornou vlastností této metody je, že odpadní voda na konci procesu obsahuje sericin, stejně jako soli a mýdlo, což má negativní dopad na životní prostředí. Výsledný sericin také podléhá těžké degradaci, snižuje se jeho molekulová hmotnost a ztrácí některé funkční vlastnosti. [25] Kromě toho je separace mýdla a sericinu velmi obtížná. V důsledku toho mohou v sericinu zůstat zbytky mýdla, což omezuje jeho použití pro biomedicínské a farmaceutické účely. [26] Vzhledem k tomu, že marseillské mýdlo je drahé, lze pro extrakci použít alternativu, kterou může být močovina, která má na sericin méně degradační účinek. Tato metoda poskytuje asi 95 % hedvábného sericinu ve vláknech, který lze extrahovat bez poškození. Metoda je však časově náročná a sericin extrahovaný močovinou může být pro buňky toxický. [27] Další možností extrakce sericinu je použití kyseliny, zejména pak kyseliny citronové a vinné, což však ale může vážně degradovat protein. Kromě toho sericin extrahovaný kyselinami nebo zásadami musí být v dalších krocích čištěn, aby se odstranily chemické nečistoty. [28]

4.2 Fyzikální metody

Kvůli výše uvedeným omezením se pro extrakci sericinu stále častěji využívá vysokoteplotní a vysokotlaká metoda (HTHP). Při tepelné metodě se kokony obvykle ohřívají nebo vaří ve vodě (s nebo bez vysokotlakého autoklávu). Vysoká teplota a tlak destabilizují vodíkové vazby mezi hydroxylovými skupinami, což umožňuje vodě interagovat s polárními hydroxylovými skupinami aminokyselin a dále oddělovat aminokyseliny od hydroxylových skupin. I když tato metoda také způsobuje určitou degradaci sericinu, zejména při použití vysokých teplot nebo při vaření roztoků po dlouhou dobu, sericin si zachovává své základní vlastnosti. Kromě toho se hedvábní zahřívá v horké destilované vodě bez přidání dalších chemikálií, čímž se z horké vody extrahuje sericin bez znečištění. Podmínky přípravy včetně teploty, tlaku a trvání zahřívání mohou do značné míry ovlivňovat molekulovou hmotnost sericinu. Extrakce sericinu metodou HTHP neobsahuje chemikálie, ale produkuje výpary, je obtížně říditelná, časově náročná a obvykle vede k nízkému výtěžku, a to především proto, že je rozpuštěna pouze vnější vrstva sericinu. [24]

Pro zvýšení rozpustnosti sericinu se k zahřívání kokonů používají infračervené (IR) stroje. Infračervené vytápění se stává populárním ve zpracovatelském průmyslu jako účinná a neznečišťující metoda aktivace kvůli údajně vyšší tepelné účinnosti a vyšší rychlosti ohřevu ve srovnání s konvekčním ohřevem. Je uznávána jako metoda se snadnou regulací teploty ohřevu, pohodlnou aplikací a výraznou úsporou místa a spotřeby energie. IR stroje pracují na principu přímého ohřevu, kdy se teplo přenáší přímo do středu materiálu ve formě elektromagnetických vln, aniž by se ohříval okolní vzduch. [29]

4.3 Enzymatické metody

Použití enzymu k extrakci sericinu z kokonu lze připsat objevu kokonáz, skupiny proteáz, které mohou napadat sericinové vazby. V procesu degummingu se používá primárně trypsin, papain a bakteriální enzymy. [30; 31] Trypsin, proteolytický enzym, hydrolyzuje peptidovou vazbu mezi karboxylovou skupinou lysinu nebo argininu a aminoskupinami sousedních aminokyselin. Protože sericin má relativně vysoký obsah lysinu a argininu, je snadno hydrolyzován trypsinem. [32] Papain má široké spektrum účinků na polypeptidy a je v kokonech účinným degummingovým enzymem. [33]

Tabulka 3: Různé metody extrakce sericinu (částečně upraveno)

Metody	Výhody	Omezení	Reference
Metody závislé na teplotě			
HTHP	bez nutnosti procesu čištění; nízké náklady; nízká toxicita; vysoká produkce biopolymeru vysoká antioxidační aktivita a inhibiční aktivita tyrosinázy	nízký výnos; degradace způsobená teplem; ničení struktur β listů;	[24]
Infračervený ohřev - IR	vysoká výtěžnost a kvalita hedvábí sericinu	nadstandardní výbava	[34]
Metoda závislá na chemickém činidle			
Alkalický roztok: Na ₂ CO ₃ , NaOH	aplikace ve velkém měřítku; nízké náklady; vysoký výnos; vysoká antioxidační aktivita	mechanické poškození fibroinu složitý proces čištění; velké množství odpadních vod; rozsáhlá degradace; ztráta aktivity antityrosinázy, masivní zmenšení β -listů	[24]
Kyselý roztok:kyselina citronová, kyselina vinná	nížší stupeň degradace než alkalické odslizování	mechanické poškození fibroinu; složitý proces čištění	[35; 36]
Močovina	nízký stupeň degradace; vysoká antityrosinázová aktivita pro inhibici melanogeneze	neefektivní; extrémně vysoká cytotoxicita; masivní zmenšení β - listů	[24]
Metoda závislá na biologických enzimech			
Papain, bromelain, pankreatin, plísňová proteáza	vhodné pro průmyslovou výrobu	nízký a úzký rozsah molekulových hmotností sericinových peptidů	[37]
	homogenní peptidy s nízkou molekulovou hmotností pro doplňky buněčných kultur	dlouhý postup degummingu	

5 VLASTNOSTI SERICINU PRO MEDICÍNSKÉ A FARMACUETICKÉ APLIKACE

V oblasti biomedicíny a farmacie se využívají rozmanité biomateriály. Typicky se dává přednost polymerům získaným z přírodních zdrojů, například z agarózy, alginátu, celulózy, chitosanu, kolagenu, keratinu nebo právě sericinu, jelikož tyto materiály mají řadu předností ve srovnání s polymery syntetického původu, jako jsou polyanhydridy, polykaprolaktony, polylaktidy, polyglykolidy a podobně. Klíčovými benefity těchto přírodních polymerů jsou biokompatibilita, netoxičita a schopnost biologického rozkladu, což je v souladu s funkcemi přirozené extracelulární matrix (ECM) a tudíž je činí vhodnými kandidáty pro použití ve farmacii a medicíně. [38]

5.1 Biokompatibilita a imunogenita

Kompatibilita s živými organismy je základním kritériem pro všechny materiály použité v biomedicíně. Tyto materiály by při styku s lidskými tkáněmi neměly způsobovat nežádoucí reakce, jako je například aktivace imunitního systému. [39] V případě sericinu byla jeho schopnost dobře koexistovat s biologickými systémy potvrzena v mnoha studiích, jelikož se tento protein neúčastní imunologických reakcí. Experimenty s přidáním sericinu do prostředí různých buněčných kultur odhalily, že tento protein není cytotoxický a je tedy bezpečný pro buňky. Výzkumem, který provedl Gil *et al.*, bylo zjištěno, že sericin nezpůsobuje aktivaci makrofágů [40]. V jiné studii Aramwit *et al.* posuzovali zánětlivou odpověď na krém obsahující sericin, který byl aplikován na rány u potkanů. Po sedmi dnech používání krému bylo zaznamenáno významné snížení produkce signálních proteinů účastnících se imunitní odpovědi, cytokinů interleukin 1 (IL1) a tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF α). [41] Tento efekt byl potvrzen i v dalších výzkumech, kde sericin snížil úroveň cytokinů vytvářených makrofágy a monocyty. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že sericin je materiál vhodný pro biomedicínské aplikace, jelikož nevyvolává silné imunitní odpovědi. [42]

5.2 Biologická odbouratelnost

Biomateriál schopný biologické rozložitelnosti lze v organismu přetvořit na jiné složky díky různým přírodním procesům. Použití materiálů, které jsou biologicky rozložitelné, je obvykle upřednostňováno při tvorbě biomedicínských výrobků, jelikož tato tělesa zůstávají v těle člověka jen po omezenou dobu, dokud neplní svou funkci, po které jsou pak postupně

a bez obtíží odbourány. Významný přínos těchto materiálů je patrný při léčbě o ošetřování ran. Použití obvazu, který se sám rozkládá, eliminuje potřebu jeho odstranění z místa poranění, což vede k omezení bolesti a diskomfortu pacienta a minimalizuje riziko poškození nově vzniklé tkáně . [43]

Sericin slouží jako biopolymer, který je schopen biologického rozkladu, a to jak v laboratorních podmínkách, tak v živých organismech, díky působení různých proteolytických enzymů, jako jsou proteáza XIV, α -chymotrypsin, proteináza K, papain, i enzymy rozkládající extracelulární matrix. Tyto enzymy cílí na hydrofilní části molekuly sericinu, které jsou rozloženy na jednotlivé aminokyseliny. Ty jsou následně absorbovány organismem bez toho, aniž by vyvolávaly imunologickou reakci. Z odborných publikací vyplývá, že po implantaci sericinových materiálů do těla dochází k jejich kompletnímu vstřebání během šesti týdnů. [44] Ve vědeckých experimentech prováděných v laboratorních podmínkách používají vědci proteázu XI jako standardní enzym pro posuzování míry rozkladu sericinu. [43] Je třeba brát v potaz, že tempo, jímž dochází k enzymatickému rozpadu, se může lišit v závislosti na specifických charakteristikách sericinových struktur (například vlákna, filmy, pěny), způsobu jejich zpracování, vlastnostech biologického prostředí na místě aplikace a vlivu mechanického či chemického stresu. [44]

5.3 Protizánětlivá aktivita

Zánět představuje klíčovou etapu v průběhu hojení, během níž se uskutečňuje pohlcování odumřelých tkání a možných cizích látek v oblasti poranění. Dále během této etapy dochází k tvorbě a uvolňování cytokinů a růstových faktorů zánětlivými buňkami, což napomáhá produkci buněk zapojených do regenerace tkáně. Avšak tato fáze vyžaduje regulaci, jelikož přemíra zánětlivých cytokinů může podnítit produkci metaloproteináz, které se podílí na rozkladu extracelulární matrix. Proto je nezbytné, aby biomateriály určené pro léčbu ran byly schopné modulovat zánětlivý proces. [45]

Hodnocení protizánětlivých vlastností látek se běžně opírá o analýzu míry produkce zánětlivých signalizačních látek, cytokinů IL-1 a TNF- α . Tyto mediátory hrají klíčovou roli v zánětlivém procesu a jsou zodpovědné také za indukci adhezních molekul, které se uplatňují v proliferativní fázi hojení. Literatura uvádí, že sericin má schopnost ovlivňovat sekreci zánětlivých cytokinů IL-1 a TNF- α , což bylo potvrzeno prostřednictvím testování jak v laboratorních podmínkách, tak při pokusech na živých organismech. [13]

5.4 Antibakteriální aktivita

Materiál využívaný v biomedicině je považován za antibakteriální, pokud dokáže eliminovat bakterie nebo inhibovat jejich růst a reprodukci. [46] V současné době se stává léčba infekcí významným problémem pro zdravotnická zařízení. Jedním z hlavních problémů v oblasti péče o rány je vznik infekcí během hojení, což může narušit normální průběh hojení a vést k vážnějším lokálním i systémovým komplikacím. [47] Proto se využití materiálů s antibakteriálními vlastnostmi jeví jako velmi perspektivní směr ve vývoji biomedicínských výrobků. Antimikrobiální účinky sericinu mohou být spojeny s existencí cysteinu ve své struktuře, což je polární aminokyselina s významnými sulfhydrylovými skupinami. Tyto skupiny jsou schopny vytvářet slabé vodíkové vazby s atomy kyslíku nebo dusíku, což vede k tvorbě vysoce reaktivních látek. Tyto látky mají potenciál narušovat enzymatické procesy a metabolické aktivity u mikroorganismů. [48]

Potvrzeny byly také antimikrobiální schopnosti sericinu proti bakteriím obou typů, gram-pozitivním i gram-negativním. Výzkum prováděný Ahamadem a KumarVootlou [49] odhalil, že sericin má schopnost potlačit růst bakterií *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*, stejně jako některých kvasinek a plísní, včetně *Candida albicans* a *Aspergillus flavus*. Jassim a Al-Saree v jejich studii odhalili, že zvýšení koncentrace sericinu vede k posílení inhibičního efektu na růst *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *E. coli*. Dále bylo pozorováno, že po sedmidenní aplikaci 2% roztoku sericinu klesl počet kolonií ze 146 na 29. [50]

Hedvábný sericin byl rovněž identifikován jako látka účinná proti tvorbě biofilmů. Nedávná výzkumná práce, ve které figuroval Aramwit *et al.* [51], se zaměřila na *in vitro* testování schopnosti sericinu zamezit formování biofilmů (preventivní účinek) a narušit již existující biofilmy (terapeutický účinek). Výsledky ukázaly, že sericin získaný pomocí močoviny, tepla nebo kyselé degradace dokáže účinně zabraňovat vzniku biofilmů nebo redukovat jejich množství, s nejvýraznější antibiofilmovou aktivitou připisovanou sericinu extrahovanému močovinou, zejména proti bakteriím *Streptococcus mutans*. Tyto poznatky naznačují potenciální využití sericinu jako prostředku proti biofilmům.

5.5 Antioxidační a fotoprotektivní aktivita

Sericin je uznáván za své výrazné schopnosti neutralizace toxických kyslíkových radikálů. Tyto radikály a reaktivní kyslíkové sloučeniny se přirozeně vytvářejí během metabolických procesů buněk, ale jejich zvýšená hladina může způsobit buněčné poškození a přispívat

k vývoji různých onemocnění, jako jsou nádory, jaterní fibróza či poškození tkáně způsobené reperfuzí. [52] Sericin je znám pro jeho schopnost eliminovat tyto škodlivé částice, omezovat lipidovou peroxidaci a působit proti enzymům, které přispívají k degeneraci tkání, jak potvrdili Kato *et al.* [53] Antioxidační schopnost sericinu souvisí s jeho bohatým obsahem aminokyselin serin a threonin, jejichž hydroxylové skupiny mohou chelátovat stopové prvky jako železo a měď. Pigmentové molekuly, jako jsou flavonoidy a karotenoidy, které se hromadí ve vrstvách sericinu, mohou také přispívat k jeho antioxidačním vlastnostem a schopnosti inhibovat aktivitu tyrosinázy. [24]

Sericin rovněž vykazuje schopnost chránit před ultrafialovými paprsky, jelikož efektivně pohlcuje UV světlo a brání oxidativnímu poškození tím, že udržuje rovnováhu mezi oxidačními a redukčními procesy. Struktura sericinu obsahuje množství aminoskupin s vysokým obsahem vodíku, kyslíku a dusíku, což mu umožňuje intenzivní absorpci UV světla s vlnovými délkami kratšími než 200 nm. [54; 55]

5.6 Protinádorová aktivita

Chemoterapie, která se používá při léčbě rakoviny, může mít vedlejší účinky na normální buňky a neoplastické buňky. To je nežádoucím účinkem v klinické praxi. Dalším problémem je, že některé nádory mohou vyvinout rezistenci vůči chemoterapeutikům. Proto je důležité najít nové látky, které by měly nižší toxicitu a byly biokompatibilní. Jednou z takových látek je sericin.

Ve výzkumu byl studován účinek suplementace stravy sericinem u zvířecího modelu rakoviny tlustého střeva. Zvířata konzumovala stravu s přídatkem sericinu po dobu 115 dní. Během této doby se nezměnila jejich tělesná hmotnost ani spotřeba potravy. Nicméně se zaznamenal pokles výskytu nádorů tlustého střeva. Sericin prokázal protinádorový účinek, zpomalila se rychlost buněčného dělení, omezila se exprese onkogenů a došlo ke snížení oxidačního stresu. [56]

Další výzkum se zaměřil na mechanismus, kterým sericin působí na rakovinu tlustého střeva. Zvířecí model rakoviny tlustého střeva byl doplněn o 3% sericin po dobu 28 dní. U těchto zvířat se snížil počet abnormálních buněk v tlustém střevě a také se snížila oxidace lipidů ve sliznici tlustého střeva. Sericin není tráven, a proto má silný antioxidační účinek, který snižuje oxidační stres a vznik nádorů. [57]

Jiný výzkum se zaměřil na účinek sericinu na proliferaci a programovanou buněčnou smrt (apoptózu) nádorových buněk tlustého střeva. Sericin měl inhibiční účinek na nádorové buňky ve srovnání s normálními buňkami tlustého střeva. Sericin také způsobil snížení životaschopnosti nádorových buněk a zvýšil aktivitu kaspázy-3, která je zodpovědná za programovanou buněčnou smrt. Sericin nezpůsobil programovanou buněčnou smrt v normálních buňkách a působil jako ochrana proti nádorovým buňkám tlustého střeva. [16]

Další výzkum byl zaměřen na účinky sericinu v případě kožních nádorů. Sericin byl testován na zvířecím modelu kožních nádorů vyvolaných chemickými látkami. Aplikace sericinu vedla k opožděnému vzniku nádorů ve srovnání s neléčenou skupinou. Sericin také snížil počet kožních nádorů a zánětlivou odpověď. Došlo rovněž k poklesu exprese genů spojených s nádorem a zánětem. [58]

Závěrem, sericin má potenciál jako protinádorová látka s nižší toxicitou a biokompatibilitou. Má schopnost snižovat růst nádorů, omezovat exprese onkogenů a snižovat oxidační stres. Sericin také působí jako ochrana proti nádorovým buňkám a zánětlivým procesům. Tyto vlastnosti sericinu ho činí zajímavým kandidátem pro další výzkum a vývoj léčiv proti rakovině tlustého střeva a kožním nádorům. [13]

5.7 Metabolické účinky v gastrointestinálním traktu

Funkční gastrointestinální poruchy jsou běžné problémy související s trávicím systémem, které se projevují různými příznaky, i když nejsou přítomny žádné organické, strukturální nebo metabolické abnormality. Jednou z látek, které byly zkoumány pro jejich účinky na trávicí systém, je sericin. V provedeném experimentu byla potkanům po dobu 12 dnů přidávána strava obsahující 3 % sericinu. Výsledkem bylo zlepšení absorpce některých minerálů, jako je zinek, železo, hořčík a vápník. To znamená, že tělo lépe využilo tyto minerály a zvýšila se jejich biologická dostupnost. Je zajímavé, že se však koncentrace těchto minerálů v krvi nezměnila a nebyly vyloučeny močí. Zdá se, že sericin, i když je odolný proti trávicím enzymům, zvyšuje rozpustnost minerálů ve střevě tím, že se na ně váže pomocí svých hydroxylových a karboxylových skupin. To naznačuje, že sericin by mohl mít potenciál jako funkční potravina. [59]

Sasaki *et al.* provedli testování sericinu na zvířecím modelu zácpy. Zkoumali, jaký vliv má přidání 4 % sericinu do stravy po dobu 14 dnů. Zjistili, že přidání sericinu neovlivnilo tělesnou hmotnost ani množství potravy, kterou zvířata konzumovala. Nicméně zjistili, že sericin zvýšil obsah vody ve stolici, což pomohlo předcházet zácpě způsobené látkou zvanou

atropin. Atropin snižuje uvolňování acetylcholinu parasympatickým nervovým systémem a může způsobit zácpu. Sericin má schopnost zadržovat vodu, podobně jako nefermentovaná vlákna. Tato schopnost je pravděpodobně zodpovědná za jeho úlohu při zlepšování zácpy. Je však důležité poznamenat, že sericin způsobil zvýšení hmotnosti suchých výkalů a obsahu dusíku ve stolici, což naznačuje, že bílkoviny byly méně stravitelné. Také struktura aminokyselin ve stolici byla podobná obsahu aminokyselin v sericinu. Tato skutečnost je přisuzována vysokému obsahu serinu v proteinu, který způsobuje jeho nízkou stravitelnost. Tento fakt byl potvrzen i *in vitro* testem, kdy sericin nebyl tráven enzymy pepsinem a pankreatinem. To naznačuje, že sericin je pravděpodobně odolný vůči proteázám. [60]

Ve studii provedené Okazaki *et al.* bylo zkoumáno, jaký vliv má přídavek sericinu do stravy myši s vysokým obsahem tuku na jejich střevní lumen. Výsledky ukázaly, že sericin zvýšil množství imunoglobulinu A (IgA) ve stolici, což je spojeno s nižším rizikem vzniku rakoviny tlustého střeva a ulcerózní kolitidy. Překvapivě se ukázalo, že konzumace sericinu neměla vliv na mikroflóru a sekundární žlučové kyseliny, ale snížila obsah primární žlučové kyseliny ve stolici. Vzhledem k těmto výsledkům lze sericin považovat za prebiotikum, které podporuje zdraví tlustého střeva tím, že ovlivňuje imunitní odpověď a funkci střevní bariéry. [61]

5.8 Snížení krevního tlaku a antikoagulační potenciál

Bioaktivní peptidy odvozené z bílkovin v potravě mají důležitou roli při ovlivňování fyziologických funkcí. Výzkumy ukazují, že sericin, který je jedním z těchto peptidů, má schopnost snižovat krevní tlak a uvolňovat napětí ve stěnách tepen. Sericin obsahuje oligopeptidy, což jsou malé části peptidů s molekulovou hmotností menší než 5 kDa. Tyto oligopeptidy mají schopnost ovlivňovat vápníkové kanály ve svalovině tepen, což vede k uvolňování napětí a uvolnění svalů. Dalším mechanismem, který se na této skutečnosti podílí, je interakce oligopeptidů s oxidem dusnatým a prostacyklinem. Tyto látky aktivují mechanismy, které podporují relaxaci svalového tkáně. Vědecké důkazy tedy naznačují, že sericin může být účinným modulátorem cévního systému. V praxi to znamená, že konzumace potravin obsahujících bioaktivní peptidy, jako je sericin, může mít pozitivní vliv na naše zdraví. Například lidé s vysokým krevním tlakem by mohli mít prospěch z konzumace potravin bohatých na sericin, který jim pomůže snížit tlak a uvolnit napětí v jejich tepnách. Je tedy zřejmé, že bioaktivní peptidy mají potenciál ovlivňovat naše tělo a mohou být využity jako přírodní prostředek pro zlepšení zdraví cévního systému. [62]

Tamada *et al.* provedli studii zaměřenou na antikoagulační účinky sericinu. V jejich experimentu byl sericin sulfatován pomocí kyseliny chlorsulfonové. Zjistili, že vyšší molekulární frakce sericinu měly silnější antikoagulační aktivitu než nižší molekulární frakce. Tato aktivita byla odhadována na úroveň 1/10 až 1/20 heparinu, což je lék používaný k ředění krve. [63]

Další studie provedená Sano *et al.* se rovněž zaměřila na sulfátový sericin. Autoři se pokusili objasnit mechanismy, kterými sulfátový sericin ovlivňuje srážení krve. Zjistili, že dochází k narušení tvorby fibrinových vláken, která jsou důležitá pro srážení krve. [64]

6 TYPY BIOMATERIÁLOVÝCH FORMÁTŮ NA BÁZI SERICINU

Na bázi sericinu byly vyrobeny různé materiály, které dle svých vlastností byly použity pro různé aplikace v medicínské i farmaceutické oblasti. Uplatňují se se především kompaktní formáty, nano a mikročástice. U kompaktních formátů se jedná konkrétně o filmy, hydrogely, scaffoldy a konduity (Obrázek 4). [11]

6.1 Filmy

Filmy (nebo membrány) jsou vysoce flexibilní a elastické formy, které umožňují výměnu plynů, přenos vodní páry a segregaci bakterií. Kůže, důležitý orgán skládající se z vrstev epidermis a dermis, se snadno poškodí akutním traumatem nebo chronickými vředy. Výzkum ukázal, že filmy vyrobené ze sericinu mají potenciál jako obvazový materiál pro podporu hojení ran díky jeho biokompatibilitě a bioaktivitě. Díky schopnosti sericinu podporovat adhezi buněk a mít antioxidační vlastnosti by takové filmy mohly být efektivní pro regeneraci pokožky po akutním traumatu nebo chronických ranách. [11]

Filmy s obsahem sericinu, které byly zpevněné látkou jako je glutaraldehyd, a také kombinované filmy sericin/kolagenu byly vyvinuty s cílem podpory hojivých procesů kůže. Tyto materiály by mohly facilitovat přilnutí a množení různých druhů buněk, jako jsou například fibroblasty a keratinocyty. [65]

Dále byl sericin začleněn do filmů z bakteriální celulózy s účelem vytvoření kompozitů s funkcionalizovaným sericinem. [66] Uvolňování sericinu z těchto kompozitních struktur napomáhalo rychlejšímu hojení, lepší tvorbě ECM a redukci zjizvení. Kromě toho, pro dodání antibakteriálních vlastností obvazovým materiálům, byly do sericinových filmů integrovány nanočástice s antibakteriálními vlastnostmi, jako jsou například nanočástice oxidu stříbrného či oxidu zinečnatého. [67]

Sericinové filmy mají potenciál i v oblasti podpory regenerace kostní tkáně. Sericin aplikovaný na kovový implantát může podporovat přilnavost, množení a diferenciaci osteoblastům podobných buněk, což by mohlo být přínosné pro obnovu kostní struktury. [68]

6.2 Hydrogely

Hydrogel je trojrozměrná síť obsahující fyzikálně/chemicky zesíťované polymery a velké množství vodného roztoku, která je široce používána v tkáňovém inženýrství a při dodávání

léčiv. Sericinový protein obsahuje mnoho polárních aminokyselin, které nabízejí velké množství postranních skupin pro chemické zesíťování [69]. Avšak sericin získaný drsnými degummingovými metodami je nevyhnutelně degradován, což ztěžuje vytváření stabilních hydrogelů. Pro vytvoření stabilních sericinových sítí je degradovaný sericin obvykle kombinován s jinými polymery např. kolagenem, želatinou, chitosanem a polyvinylalkoholem za vzniku kompozitních hydrogelů. [70]

Byly vyvinuty sericinové nanokompozitní hydrogely s antibakteriálními vlastnostmi jako obvazy na rány. [71] Důležité je, že sericinové kompozitní hydrogely by mohly adsorbovat bakterie a přerušit fyziologické aktivity připojených bakterií uvolněným mikromolekulárním sericinem, čímž by se dosáhlo antibakteriálního účinku. Podobně lysozymem naplněný sericin/agarózový hydrogel vykazoval vynikající antimikrobiální aktivity a vlastnosti absorpce vody, které mají velký potenciál v aplikacích regenerace kůže. [72]

Rovněž byly vytvořené některé další kompozitní hydrogely, např. sericin/kyselina γ -glutamová, sericin/polyakrylamid a sericin/chitosan, jako obvazy na rány, neboť sericin by mohl podporovat proliferaci a migraci fibroblastů. [73; 74] Kromě polymerů byly do sericinových hydrogelů zabudovány také anorganické nanočástice, aby jim dodaly antibakteriální vlastnosti nebo hemostatickou aktivitu. [75]

6.3 Scaffoldy

Během procesu regenerace tkáně je nezbytné použití biomateriálových tkáňových lešení, známých také jako scaffoldy, které poskytují prostředí pro růst buněk a podporují buněčnou proliferaci, čímž urychlují proces hojení. [76]

V rámci výzkumu byl sericin upraven jako scaffold ve formě porézní pěny, která byla vytvořena buď odléváním z roztoku nebo lyofilizací. [76] Lyofilizované lešení sericin/polyvinylalkohol, které bylo následně precipitováno v ethanolu, prokázalo schopnost podporovat proliferaci fibroblastů L929 *in vitro* a urychlit hojení ran v plné tloušťce u potkanů. Přidání glycerinu do této konstrukce zlepšilo její elastické vlastnosti a snížilo přilnavost díky vylepšené pórovité struktuře. Klíčovým prvkem bylo postupné uvolňování sericinu, čímž se tento materiál stal vhodným pro dlouhodobé použití při léčbě ran. [77]

Pro regeneraci kostí a chrupavek byly vyvinuty sericinové scaffoldy mineralizované hydroxyapatitem, které nejen podporovaly adhezi a proliferaci mezenchymálních kmenových buněk kostní dřene, ale také osteogenní diferenciaci těchto buněk. [78]

Pro regeneraci nervů byly připraveny kompozitní scaffoldy chitosan/sericin modifikované nervovými růstovými faktory pro léčbu chronické nervové komprese. Tento scaffold byl schopen podporovat adhezi a proliferaci Schwannových buněk. V preklinickém modelu chronické komprese nervu na potkanech podpořil tento scaffold funkční obnovu nervu zmírněním neuralgie, zvýšením rychlosti vedení nervu a podporou regenerace mikrostruktury. [79]

Kromě toho byl vyvinut injekční sericinový skelet dopovaný uhlíkovými nanotrubičkami s programovatelnou tvarovou pamětí pro léčbu ischemické cévní mozkové příhody. Je zajímavé, že tento scaffold může přenášet mezenchymální kmenové buňky kostní dřeně do mozkové tkáně, funkčně podporovat diferenciaci neuronů a usnadnit nápravu po mrtvici. [80]

6.4 Nervové konduity

Konduity pro nervové vedení, které obvykle připomínají tvar trubičky, jsou tvořeny buď přírodními, nebo umělými materiály, a slouží jako náhrada za transplantáty nervové tkáně při opravách poškozených periferních nervů. Díky vlastnostem jako je biokompatibilita a schopnost biologického rozkladu, byl sericin využit k vytváření kanálků, které napomáhají regeneraci nervů. V provedeném výzkumu byl vyvinut konduit pro nervové vedení z kombinace sericin/silikonu, který efektivně podporoval obnovu struktury a funkce nervů po poranění, konkrétně při opravě defektu pětimilimetrové mezery v modelu sedacího nervu. [81]

Aby bylo dosaženo lepších výsledků při opravě větších mezer, byl do sericinového konduitu přidán clobetasol. Tento sericinový konduit s clobetasolem dokázal úspěšně opravit nervové poškození u potkanů, přičemž degradační produkty konduitu napomáhaly sekreci neurotrofických faktorů a clobetasol stimuloval exprese genů spojených s myelinizací ve Schwannových buňkách. [82] Kromě toho byly do sericinového kanálku zahrnuty uhlíkové nanotrubičky, které mu dodaly elektrickou vodivost a výrazně zlepšily funkční výsledky uhlíko/sericinového kanálku při rekonstrukci nervové tkáně a obnově funkčnosti v modelu potkana s nervovým poraněním. [82; 83]

6.5 Nanočástice

S pokrokem nanotechnologií se nanomateriály široce používají pro řízené dodávání léků a diagnostiku. Sericin jako materiál v nano a mikroměřítku nabízí jedinečné výhody díky

svým modifikovatelným strukturám a vynikajícím biologickým vlastnostem. Stabilita a disperzibilita nanočástic jsou klíčové pro úspěšné využití nanotechnologií v oblasti dodávání léků a diagnostiky, aby se zabránilo zánětům a toxicitě způsobené agregací nanočástic ve fyziologickém prostředí. Tyto aspekty je třeba řádně zohlednit při vývoji nových nanostruktur založených na sericinu. [84]

Sericin se ukázal jako efektivní stabilizátor pro nanonosiče fluorovaného grafenu ve vodě, což umožnilo účinné plnění léčiv a prodlouženou cirkulaci v krvi. Přítomnost sericinu zvyšuje stabilitu a biokompatibilitu nanomateriálů, což je důležité pro řízené dodávání léků a diagnostické účely. Sericinový povlak na nanočásticích, jako je oxid křemičitý, může zabránit předčasnému úniku léčiv a umožnit cílené uvolnění ve specifických podmínkách, jako je kyselé mikroprostředí lysozomů v nádorových buňkách. Tato technologie poskytuje inovativní a perspektivní přístup k efektivnímu řízenému dodávání léčiv. [85]

Sericin může být využíván jako nosič léčiv pro nerozpustné molekuly nebo vytvářet nanokompozity s dalšími polymery pro zlepšení terapeutických účinků a snížení toxicity. Tato vlastnost sericinu umožňuje vytváření různých druhů terapeutických nosičů, jako jsou například nanokuličky nebo polymerní micely, které mohou efektivně dodávat léčiva do cílených buněk. [86]

Konjugace s dalšími látkami, jako je vitamin B12, může dále zlepšit schopnost těchto nosičů přesně cílit na maligní buňky s nadměrnou expresí specifických buněčných receptorů. Tato inovativní aplikace sericinu ukazuje jeho potenciál jako klíčového materiálu v oblasti nanotechnologií v medicíně. [87]

Sericin se díky své schopnosti reagovat na změny pH kvalifikuje jako unikátní materiál pro konstrukci "chytrých" nanonosičů, jako jsou například nanočástice sericin/chitosan s reverzním nábojem citlivé na pH. Tyto nanočástice mohou změnit svůj náboj v závislosti na prostředí, což vedlo ke zlepšení buněčné internalizace a intracelulárního dodávání léčiva. Díky možnosti modifikace sericinu je také možné vytvořit konjugáty citlivé na pH, které mohou cíleně uvolňovat léčivo v konkrétních buněčných prostředích, jako jsou lysozomy. [87]

6.6 Mikročástice

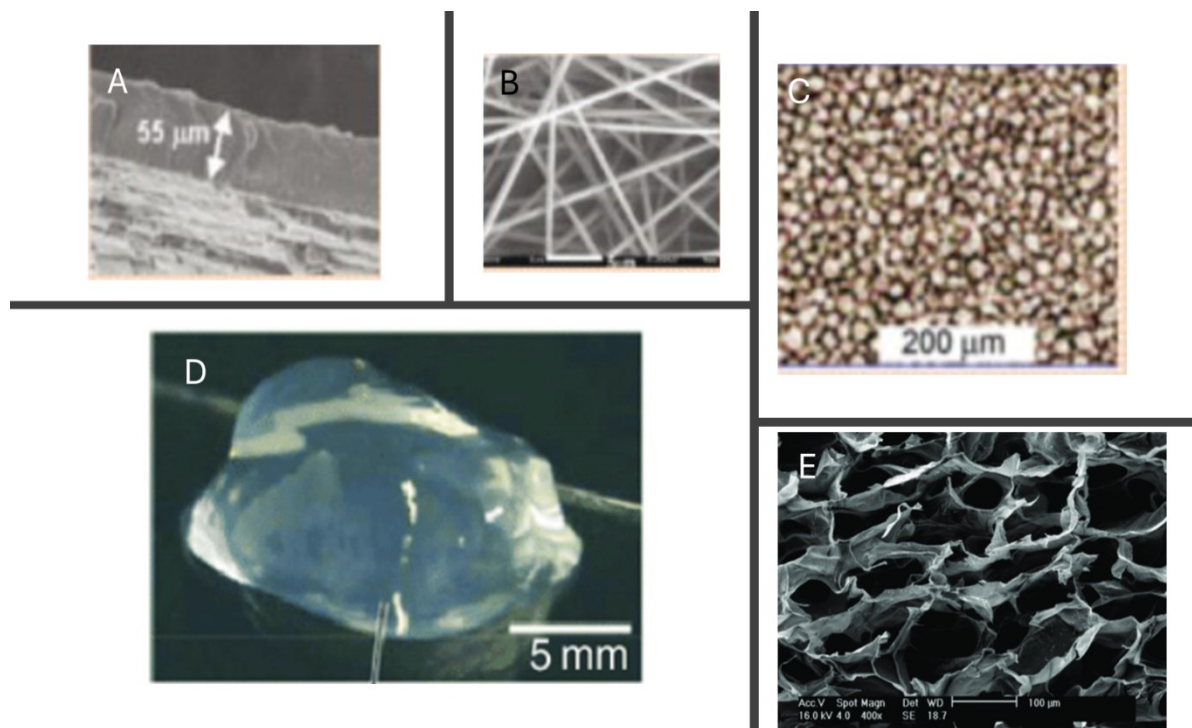
Pro cílené lokální podávání léků do konkrétních tkání nebo orgánů, které potřebují speciální struktury a které mohou vyžadovat přenos větších molekul, byly vytvořeny mikročástice

založené na sericinu jako efektivní nástroj pro systémy doručování léčiv. Existuje mnoho technik pro vytváření těchto mikročástic ze sericinu. Výzkumná skupina vyrobila pomocí emulzní techniky voda v oleji sericinové mikročástice, následovně do nich aplikovali léčivo doxorubicin (DOX) a poté mikročástici obalili materiálem získaným z kyseliny tříslové. Tyto inovativně navržené mikročástice byly schopny se efektivně kumulovat v plicích, kde zůstávaly více než pět dní po jejich inhalaci a kontinuálně uvolňovaly protinádorové léčivo v závislosti na pH. Mikročástice obsahující DOX významně snížily počet metastáz v plicích v modelu metastatického prsního karcinomu. [88]

K vytvoření mikrokapslí ze sericinu byla zavedena ekologicky šetrná metoda, která nepotřebuje použití organických rozpouštědel. Roztok sericinu byl smíchán s přiměřeným množstvím roztoku chloridu vápenatého a promícháván při teplotě lidského těla po dobu 24 hodin. Za neutrálního pH došlo k proměně struktury sericinu díky vazbě vápníkových iontů, což vedlo k samovolnému vzniku mikrokapslí. Formu těchto mikrokapslí lze jednoduše upravit změnou koncentrace Ca^{2+} iontů a intenzity míchání. Kromě toho mohou pH pufrů a typy přítomných iontů ovlivnit proces tvorby mikrosférických struktur ze sericinu. [89]

V dalším výzkumu byl sericin modifikován 2 - isokyanatoethylmethakrylátem (IEM), aby se získal fotoreaktivní materiál. Díky fotolitografické technice je možné přesně regulovat síťování sericinu a dosáhnout požadovaného tvaru a vzorů mikrostruktur. Tyto detailně definované mikrostrukturní vzory mohou posloužit jako ideální podklady pro pěstování buněk, které následně rostou ve specifických směrech i bez nutnosti dalších adhezivních ligandů. [89]

Aby se předešlo odmítnutí transplantovaných buněk, které jsou často náchylné k imunitní reakci hostitele a mají omezenou schopnost množení, Nayak *et.al.* vyvinuli mikrokapsle vytvořené z kuliček kombinujících sericin/algínát a dále zpevněné chitosanem skrze ionotropní gelaci. Mikrokapsle sloužily jako ochranná bariéra, která izolovala buňky od imunitních reakcí hostitelského organismu. Zároveň pórovitá struktura mikrokapslí umožnila výměnu živin, což zajišťovalo přežití a metabolickou aktivitu jaterních buněk umístěných uvnitř. Tato metoda mikrokapslí založená na buněčné terapii by mohla poskytnout bohatou populaci buněk s metabolickou a funkční aktivitou pro transplantace hepatocytů u pacientů s akutním selháním jater bez nutnosti použití imunosupresiv. [90]



Obrázek 4: Ukázka morfologie jednotlivých formátů sericinu, (A) film, (B) nanočásticová vlákna, (C) mikročástice, (D) hydrogel, (E) scaffold [91; 92]

7 SERICIN V TKÁŇOVÉM INŽENÝRSTVÍ

V oblasti regenerace tkání hrají biomateriály klíčovou roli. Představují základní strukturu, ve které se kombinuje ECM, buněčné interakce a růstové faktory, což přispívá k obnově poškozených tkání. [93] Proto je důležité vybírat biomateriály, které dokáží napodobit přirozené funkce ECM a poskytnout ideální podmínky pro buněčný růst. Sericin má některé pozitivní vlastnosti, jako je mitogenní účinek na savčí buňky a schopnost udržovat vlhkost, což podporuje regeneraci tkání. Nicméně, jeho amorfní struktura, rozmanité molekulové hmotnosti a vysoká rozpustnost způsobují, že je materiál křehký a složitý na zpracování, což ho činí nevhodným pro některá medicínská použití. Proto byly vyvinuty různé metody, jak posílit fyzické vlastnosti sericinových materiálů, zejména pokud je protein získán z bource morušového alkalickým procesem nebo extrahován za vysokých teplot a tlaků. Sericin má však výhodu polárních postranních skupin s hydroxylovými, karboxylovými a aminoskupinami, které umožňují efektivní síťování, kopolymeraci a kombinaci s jinými polymery, což vede k vytvoření vylepšených bio-odbouratelných kompozitů. [94]

7.1 Podpora hojení ran

Mitogenní účinek sericinu na savčí buňky je velmi užitečný v oblasti tkáňového inženýrství. Ten umožňuje růst keratinocytů a fibroblastů, což vede k novým aplikacím sericinu v regenerativní medicíně a jako biomateriálu pro hojení ran. Tyto buňky nejen produkují regulační cytokiny pro hojení ran, ale také se podílejí na reepitelizaci a produkci proteinů ECM, které mají klíčovou roli při hojení. [95]

Výzkum ukázal, že krém s obsahem sericinu významně urychluje a zlepšuje hojení ran tím, že podporuje produkci kolagenu a rychlou reepitelizaci v kožních ranách potkanů ve srovnání s běžnými léčebnými prostředky. Během procesu hojení ran je důležitá nejen proliferace keratinocytů, ale také jejich migrace, která je nezbytná pro obnovení epiteliální kontinuity. Studie ukázaly, že sericin usnadňuje tuto migraci a tím podporuje hojení ran. Díky schopnosti sericinu podporovat tvorbu kolagenu a urychlit reepitelizaci otevřených ran se ukazuje jako potenciálně účinný prostředek pro léčbu popálenin. Klinické testy potvrdily, že krém s obsahem sericinu výrazně posiluje proces reepitelizace a zkracuje dobu hojení ran. Vykazuje další výhodné vlastnosti, jako je antibakteriální aktivita, hydratační účinek a zvýšená propustnost kyslíku, které jsou rovněž důležité pro normální a rychlé hojení ran. V bakteriálních kulturách se ukázalo, že sericin brání buněčnému dělení a růstu, způsobuje dysfunkci membrán, což vede k inhibici buněčného cyklu u nežádoucích buněk. [65]

V posledních letech se vědci také intenzivně zaměřují na využití specifických látek při hojení kožních ran. Bylo vyvinuto několik biomateriálů, které se používají jako obvazy na rány. Tyto biomateriály se také dokázaly dobře napouštět tekutinami, což umožňovalo, aby sericin zůstal v biomateriálu po delší dobu. Sericin byl uvolňován postupně a jeho množství bylo možné ovlivnit. Tyto biomateriály byly testovány na buněčných kulturách a ukázalo se, že jsou biokompatibilní, což znamená, že nezpůsobují žádné negativní účinky na buňky. Naopak, podporují růst a množení buněk, které jsou důležité pro hojení ran. Nicméně, při vyšších koncentracích sericinu se ukázalo, že může být toxický. [96]

Další studie se zaměřila na vytvoření kompozitních membrán obsahujících sericin a kolagen, které se používají jako obvazy na rány. Tyto membrány měly dobré mechanické vlastnosti a byly schopné propouštět kyslík a vodní páru. Byly tak vhodné pro použití při léčbě ran, které nevydávají velké množství tekutiny. Tyto komplexy byly také testovány na zvířatech a ukázalo se, že jsou odolné vůči degradaci po dobu několika týdnů. Navíc podporovaly růst a množení buněk, které jsou významné pro hojení ran a vykazovaly nižší zánětlivou reakci ve srovnání s jinými materiály. Při vývoji těchto biomateriálů byla také zkoumána možnost použití jiné chemické látky pro zesíťování, která by mohly nahradit glutaraldehyd. Bylo zjištěno, že genipin, což je přírodní látka získávaná z rostliny gardénie, může být vhodnou alternativou. Genipin umožňuje vytvoření biomateriálů s dobrou pevností a schopností uvolňovat sericin v požadovaném tempu. Celkově lze říct, že tyto biomateriály mají potenciál být použity při léčbě ran a inženýrství měkkých tkání. Mají vysokou pórovitost a nízkou hustotu, což je důležité pro jejich schopnost absorbovat tekutiny a propouštět vzduch. [97]

7.2 Kostní tkáňové inženýrství

V porovnání s jinými biomateriály, které se používají jako nosiče kostní tkáně, se čistý sericin nepoužívá kvůli svým slabým mechanickým vlastnostem. Nicméně, sericin má pozitivní vliv na tvorbu kostní tkáně díky své schopnosti stimulovat růst buněk a nukleaci kostního hydroxyapatitu (HA). Proto se biomateriály založené na bázi sericinu používají také v oblasti inženýrství kostní tkáně. Například, bylo zjištěno, že flexibilní sericinový film ošetřený ethanolem a ponořený do simulované tělní tekutiny způsobuje depozici HA. Tyto biokompozitní filmy ukázaly vynikající životaschopnost kostních buněk MG-63. [98]

Další studie potvrdila, že serin indukuje tvorbu HA s nízkou krystalinitou. Tato tvorba HA byla ovlivněna strukturou a molekulovou hmotností sericinu. Pouze sericin s vysokým obsahem β -listů a vysokou molekulovou hmotností úspěšně indukoval nukleaci HA. [68]

Další výzkum se zaměřil na sericin filmy získané z kokonů čeledi *Antheraea pernyi*, které byly ošetřeny ethanolovým postupem a namáčeny do roztoků vápníku a fosfátu. Tento postup také vedl k nukleaci HA na filmech. Byly použity různé analytické metody, jako je infračervená spektroskopie, rentgenová difrakce a energiově disperzní rentgenová analýza, k potvrzení existence krystalů apatitu s malou velikostí a nízkou krystalinitou. Tento sericin také prokázal dobrou biokompatibilitu s buňkami MG-63, podporující adhezi a šíření buněk na podobné úrovni jako sericin a fibroin získaný z kokonů čeledi *Bombyx mori*. [99]

Jiná studie se zaměřila na vytvoření mikrokuliček pro kostní tkáňové inženýrství. Přidání sericinu do směsi vápníku a uhličitanu sodného vedlo k tvorbě kulovitých částic vateritu, které byly následně mineralizovány za vzniku mikrosfér HA. Tvar a velikost těchto mikrokuliček mohly být ovlivněny změnou pH a dobu trvání reakce. [100]

Další výzkum se zaměřil na využití sericinu k podpoře oseointegrace na titanových površích. Bylo zjištěno, že sericin účinně podporuje růst a proliferaci osteoblastů a zvyšuje exprese alkalické fosfatázy a osteokalcinu, což naznačuje iniciaci diferenciací osteoblastů. [101]

Z těchto studií vyplývá, že biomateriály založené na bázi sericinu mají potenciál pro použití v oblasti inženýrství kostní tkáně, jelikož stimulují růst buněk a nukleaci kostního HA. [102]

7.3 Biomateriály na bázi sericinu pro jiné tkáně

Kromě dvou hlavních oblastí, zmíněných výše, byly také provedeny některé studie týkající se jiných tkání. V těchto studiích byly využity biomateriály na bázi sericinu, které mají různé aplikace v oblasti tkáňového inženýrství chrupavky. Tyto biomateriály byly upraveny tak, aby obsahovaly různé koncentrace kyseliny hyaluronové a chondroitin sulfátu, které jsou důležité pro funkce chrupavky. Po upravení a vysušení měly nosiče s obsahem 10 % kyseliny hyaluronové porézní a homogenní strukturu, podobnou struktuře chrupavky. Tyto nosiče měly velké vzájemně propojené póry, které umožňovaly rychlé a rozsáhlé bobtnání. To znamená, že lidské kmenové buňky odvozené z tukové tkáně se snadno pohybovaly a rovnoměrně se usazovaly do nosiče během testů biokompatibility. Tyto kmenové buňky se dobře přichytily a rozmnožovaly v nosiči, což vedlo k vyšší životaschopnosti a růstu buněk ve srovnání s kontrolními nosiči bez kyseliny hyaluronové. [103]

Kromě obnovy funkce tkání je dalším důležitým cílem moderního tkáňového inženýrství obnovit estetiku poškozených míst, například po poranění, vrozených vadách nebo chirurgických zákrocích. Jednou z metod, které se v této souvislosti používají, je tkáňové inženýrství tukové tkáně. V rámci této metody jsou kmenové buňky z tukové tkáně předem namnoženy ve 3D nosičích tvořených z kolagenu a sericinu, poté jsou následně kultivovány v laboratoři. Oproti nosičům obsahujícím pouze kolagen se ukázalo, že přítomnost sericinu zlepšuje biokompatibilitu, což znamená, že buňky lépe přilnou a rozmnožují se, a také se lépe šíří po celé struktuře nosiče. Sericin také zlepšuje schopnost kmenových buněk vytvářet tuk, protože stimuluje nadměrnou expresi genů, které jsou důležité pro tvorbu tukových buněk. Tato schopnost sericinu také přináší výhody pro hojení ran, což je důležité pro tuto novou strategii tkáňového inženýrství tukové tkáně. [104]

8 SYSTÉM DODÁVÁNÍ LÉČIV

Aplikační systémy se používají ke zlepšení účinků aktivních sloučenin, jako jsou léky nebo jiná terapeutická činidla tím, že se zaměřují na místo jejich dodání, kontrolují jejich uvolňování nebo stabilizují jejich molekulární stav za účelem dosažení požadované bioaktivity. [105] Výzkum ukázal, že sericin má celou řadu vlastností, díky kterým je pro tuto oblast užitečný. Díky svému amfifilnímu charakteru může být sericin použit jako nosič, protože snadno váže nabitě molekuly. Kromě toho jeho dlouhý poločas *in vivo* díky zvýšené retenci při filtraci ledvin a jeho vysoké schopnosti absorpce a desorpce vlhkosti, ilustrované jeho botnacím a debotnacím chováním, představují důležitá kritéria při podávání léčiv. V závislosti na aplikaci může být sericin použit v čistém stavu nebo konjugován s jinými polymery k výrobě implantovatelných nebo injekčních materiálů ve formulacích, jako jsou lešení, filmy, hydrogely, vlákna, pěny, kuličky, kapsle a mikrožehličky. [79]

Tyto typy aplikátorů založených na bázi sericinu byly zkoumány a popsány různými vědeckými týmy. Bylo prokázáno, že sericin je schopný vázat na sebe nabitý fluorescein isothiokyanát-albumin díky iontovým interakcím. [105]

Rychlost, s jakou se léčivo uvolňuje, lze upravit podle složení a množství sericinu ve formulaci. Experimenty na potkanech ukázaly, že u filmů dochází k uvolňování léčiva po dobu tří až šesti týdnů. Další studie zjistily, že sericinové filmy mohou prostřednictvím iontových interakcí úspěšně fixovat fibroblastový růstový faktor, který se následně uvolňuje postupně a podporuje tak růst okolní tkáně v oblasti lebky potkanů, což naznačuje možnost využití těchto materiálů k urychlení obnovy kostí a zacelení ran. [79]

Byly vyrobeny nanočástice sericin - poloxamer a prokázaly schopnost efektivně zachycovat léčiva, ať už hydrofobní nebo hydrofilní, a to díky iontovým vazbám. Tyto nanostruktury zůstávaly stabilní ve vodním prostředí až deset dnů, což naznačuje, že by v těle mohly přetrvávat po delší dobu. Jejich malá velikost by mohla přispět k lepšímu pronikání léčiv do méně dostupných oblastí, jako jsou hlubší vrstvy tkání. [106]

Výzkumy v oblasti dodávání léčiv se stále více orientují i na vývoj takových materiálů, které reagují na změny pH a sericin se ukazuje jako perspektivní kandidát pro takové aplikace. Odborníci v této oblasti experimentují s vytvářením sericinových mikrokapslí citlivých na pH, které by mohly sloužit jako nositelé pro orální administraci léků. Tyto mikrokapsle, vznikající při vyšších koncentracích sericinu se vyznačují jejich schopností kontrolovatelně se rozpouštět a nabobtnávat v závislosti na pH. V experimentech bylo použito léčivo

diklofenak a jeho uvolňování bylo ovlivněno rozpustností materiálu v simulovaném prostředí tenkého střeva. Další studie naznačily možnost vytvoření podobných struktur i při nižších koncentracích sericinu po koagulaci v alkoholu, pravděpodobně kvůli úzkému rozdělení molekulové hmotnosti po frakcionaci vzorku, kdy se menší peptidy nevysrážejí ve směsích voda - alkohol. Dále byly zkoumány hydrogelové sítě sericin/metakrylová kyselina, jejichž pH citlivost umožňuje rychlé bobtnání a zmenšování. Tyto hydrogely vykazovaly poréznost a flexibilitu, která podporovala různé rychlosti permeace albuminu, použitého jako modelové léčivo, v prostředí s různým pH, napodobujícím žaludeční až střevní podmínky. [107]

Metoda biochemické modifikace s použitím sericinu se využívá ke zlepšení stálosti a zpřístupnění bioaktivních látek. Kovalentním spojením inzulinu s molekulami sericinu za pomoci glutaraldehydu dochází ke zvýšení jeho stability, jak v laboratorních podmínkách, tak při použití *in vivo*. Účinnost inzulinu po spojení se sericinem závisí na množství síťovadla a délce doby síťování, přičemž biochemická modifikace významně prodlužuje jeho působení. [108] Podobně byl enzym L-asparagináza pevně zakotven na mikroskopické částice sericinu, opět s využitím glutaraldehydu. Tento proces zvyšuje tepelnou stabilitu enzymu, zlepšuje jeho schopnost navázat se na substrát a činí ho odolnějším vůči rozkladu trypsinem, což vede k posílení jeho enzymatické funkčnosti. [109]

V současném výzkumu týkajícím se zlepšení regeneračních schopností tkání v rámci tkáňového inženýrství se klade důraz na efektivní dopravu buněk do cílových oblastí. Tato práce se soustředí na mikročástice jako vhodnou formu pro přenášení buněk, poskytující jim podmínky pro růst a obnovu tkání a zároveň umožňující ochranu před imunitním systémem. Odborníci z výzkumných týmů vyvinuli mikrokapsle v kombinaci sericin/alginát/chitosan, které byly stabilní i v roztocích s vysokým obsahem iontů a umožňovaly buňkám hepatocytů nejen růst, ale i vykonávat klíčové funkce, jako je metabolizace glukózy či produkce močoviny a albuminu. [110]

9 PERSPEKTIVA SERICINU

S nedávným rozvojem biomateriálů na základě sericinu pro obory jako je tkáňové inženýrství a regenerativní medicína se ukazuje, že sericin, vedlejší produkt z výroby hedvábí, nabízí obrovské možnosti pro využití v biomedicině. Tato evoluce může výrazně ovlivnit budoucí směřování hedvábného průmyslu, přispět k jeho modernizaci a zároveň posilnit oblasti tkáňového inženýrství a regenerativní medicíny. Přestože bylo objeveno a zkoumáno mnoho biomateriálů založených na sericinu z hedvábí, od nanočástic až po kompaktní konstrukce, dosud nejsou k dispozici žádné zdravotnické výrobky založené na sericinu dostupné v komerční sféře. Na druhou stranu, fibroin získaný z kokonů bource morušového se již dostal na trh ve formě různých medicínských produktů pro různé účely (jako je chirurgická opora SERI®, šicí materiál Sofsilk™, hlasová protéza Silk Voice®, Sidaiyi® obvazy na rány). Při srovnání těchto dvou proteinů z kokonů bource morušového je nutno uvažovat nad možnými výzvami, které mohou stát v cestě rozvoje a klinické aplikace materiálů založených na sericinu.

Sericin byl historicky považován za vedlejší produkt textilní výroby, čímž nedostával srovnatelnou pozornost jako jeho protějšek, fibroin. Tento fakt spolu s dlouhodobými pochybnostmi o jeho možném imunogenním charakteru způsobil, že v oblasti biomateriálů založených na sericinu neproběhlo tolik výzkumů jako u fibroinu, včetně charakterizace struktury, zkoumání biologických aktivit a vývoje produktů. Je výzvou získat sericinový protein ve vysoké kvalitě (bez degradace a denaturace) ve velkém nebo průmyslovém měřítku. I když se podařilo izolovat nepoškozený sericinový protein z morušového bource s omezeným množstvím fibroinu pomocí jemné extrakční metody, zdroje těchto speciálních kokonů jsou limitované. U standartních kokonů bource morušového, bez ohledu na to, zda jsou z morušových či jiných typů, by jakákoli extrakce vedla k nežádoucímu rozkladu a denaturaci sericinu. Tato problematika významně omezuje hloubkové zkoumání vlastností sericinu a výrobu biomateriálů na bázi sericinu. [11]

Imunogenní potenciál sericinu, který je stále předmětem diskusí, i když množství výzkumů ukazuje na jeho bezpečnost a vhodnost pro použití jako biomateriál, byl nedávno předmětem dalšího výzkumu. V rámci studie byla zkoumána biokompatibilita sericinu získaného z divokých typů i fibroin-deficientních mutantních kokonů bource morušového na myších určitého kmene, čímž byla potvrzena minimální imunogenita a alergenicita. Avšak výsledky této studie byly omezeny pouze na specifický druh kokonů a testované myši, tudíž

je indikováno další zkoumání biokompatibility různých druhů kokonů a imunologických reakcí na sericin u dalších druhů živočichů a potenciálně i u lidí. [11]

Základní mechanismy sericinu podporující opravu tkání nejsou jasné. V několika studiích bylo zjištěno, že sericin podporuje tvorbu nových krevních cév a podněcuje migraci a tvorbu kostních buněk, což napomáhá lépe regenerovat kosti. Tyto procesy byly spojeny s aktivací různých signálních drah v buňkách. Nicméně, konkrétní peptidová sekvence v sericinu, která je zodpovědná za aktivaci těchto signálních drah, nebyla identifikována. Komplexnost sericinu, který je tvořen mnoha proteiny a peptidy, a skutečnost, že běžné extrakční metody tyto proteiny štěpí, činí identifikaci specifických receptorů a souvisejících signálních cest náročnou, dokud nebude možné izolovat jednotlivé fragmenty proteinu. [111]

Sericin obsahuje ve své struktuře velké množství náhodných klubek, které zvyšují křehkost materiálu. Navíc, agresivní metody využívané pro extrakci mohou dále zmenšovat molekulární hmotnost získaných peptidů, čímž negativně ovlivňují jejich kvalitu. V důsledku toho obvykle materiály vytvořené ze sericinu vykazují omezené mechanické vlastnosti. [95]

Aby se dosáhlo regulace nových lékařských pomůcek podle směrnice FDA (Food and Drug Administration), je klíčové dokázat, že jsou v podstatě ekvivalentní již schváleným produktům, včetně hodnocení rizik a efektivity. V kontextu vývoje sericinových produktů to zahrnuje výzvy jako biologickou bezpečnost, účinnost, mechanickou odolnost a konzistenci produktů. Je tedy přínosné investovat do výzkumu sericinu, který by se zaměřil na inovace v extrahování sericinu, aby se minimalizovalo poškození proteinů, dále určení struktury a sekvenování sericinu, důkladné preklinické a klinické studie zkoumající jeho bezpečnost a efektivitu, prozkoumání mechanismů, kterými sericin a jeho odvozené peptidy působí, a v neposlední řadě také vylepšení pevnosti sericinových materiálů. I vzhledem k některým dosud nevyřešeným otázkám v oblasti výzkumu proteinu sericinu, tento přírodní materiál prokazuje vysoký potenciál pro tvorbu inovativních materiálů vhodných pro použití v oblasti tkáňového inženýrství a regenerativního lékařství. V budoucnu by mělo být zaměřeno úsilí na vývoj sericinových materiálů, které by reagovaly na specifické podněty a měly by schopnost přizpůsobit se dle potřeby, což se jeví jako nadějný směr výzkumu. Dále by mohly být vyvinuty různorodé formy sericinových materiálů pro různé biomedicínské aplikace, jako jsou speciální "inkousty" pro 3D tisk, mikro Jehličky, elektronika nebo dokonce pokročilí mikro/nano roboti. Průzkum možností využití sericinu v těchto multidisciplinárních sektorech je rovněž perspektivní cestou pro další bádání. [11]

ZÁVĚR

V posledním desetiletí se sericin stal velmi zajímavým materiálem pro biomedicínské a biotechnologické aplikace. Tento protein má řadu výtečných biologických vlastností, které jej činí zajímavým kandidátem pro využití v oblasti biomateriálů. Biokompatibilita, proliferační schopnost a také antioxidační vlastnost je však založen na jeho biochemických a biofyzikálních vlastnostech, které se zásadně liší podle zdroje a způsobu izolace proteinu.

Při různých metodách jeho izolace bohužel dochází k jeho degradaci a změnám v molekulové hmotnosti, což způsobuje zásadní změny materiálu, jako je křehkost a snížená stabilita. Sericin je po chemické stránce bohatý na obsah aminokyselin, jejichž postranní skupiny snadno reagují s jinými polymery a dochází k zesíťování, čímž se dosáhne zvýšení mechanických vlastností. Aminokyselinové složení je rovněž zodpovědné za jeho biologickou aktivitu. Díky svým vlastnostem sericin chrání buňky před oxidativním stresem a podporuje růst a migraci buněk. V lékařství se používá při hojení ran a regeneraci kůže. Indukuje také vznik kostní tkáně a může být použit v kostním tkáňovém inženýrství. Díky své chemické reaktivitě je snadno vázán s jinými molekulami, čehož lze využít v inteligentních materiálech pro transport léčiv.

V rámci práce byla provedena přehledová rešerše shrnující dosavadní poznatky o tomto materiálu a jeho možných aplikacích. Z provedené studie plyne, že sericin je nadějným proteinem pro různé aplikace v lékařském oboru. Je však nutné pokročit v aplikacích sericinu v systémech dodávání léčiv, aby se plně využily jeho specifické vlastnosti. Nadále je důležité aktivně podporovat rozvíjející se výzkum sericinu v tkáňovém inženýrství a v neposlední řadě hledat dokonalejší cesty způsobu jeho izolace pro vznik stabilního proteinu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] OMENETTO, Fiorenzo a KAPLAN, David. New Opportunities for an Ancient Material. online. *Science*. 2010, roč. 329, č. 5991, s. 528-531. ISSN 0036-8075. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/science.1188936>. [cit. 2024-02-04].
- [2] ZARE, Abolfazl. Sericin eco-friendly biomaterial as a spin finish in drawn textured PET yarn production. online. *Research Journal of Textile and Apparel*. 2023. ISSN 1560-6074. Dostupné z: <https://doi.org/10.1108/RJTA-07-2022-0086>. [cit. 2024-02-04].
- [3] DRAŽŠÍ NEŽ ZLATO [ONLINE]. ABC, 2003-07-04 [CIT. 2022-08-17]. DOSTUPNÉ ONLINE. online. In: . [cit. 2023-11-25].
- [4] NGUYEN, Thang Phan; NGUYEN, Quang Vinh; NGUYEN, Van-Huy; LE, Thu-Ha; HUYNH, Vu Quynh Nga et al. Silk Fibroin-Based Biomaterials for Biomedical Applications: A Review. online. *Polymers*. 2019, roč. 11, č. 12. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym11121933>. [cit. 2024-05-12].
- [5] SILK MANUFACTURING PROCESS [ONLINE]. SARAH TUCKER COLLEGE, 2022 [CIT. 2022-08-17]. DOSTUPNÉ ONLINE. online. In: . [cit. 2023-11-25].
- [6] *Sericulture Training Manual FAO agricultural services bulletin – Vydání 80, ISSN 1010-1365*. Food & Agriculture Org., 1990. ISBN 9251029040.
- [7] HLADÍK, Vít, Tomáš KOZEL a Zdeněk MIKLAS. Textilní materiály. 2.vyd. Praha: STNL – Nakladatelství technické literatury,.
- [8] STANĚK, Jaroslav, Jana HYNČICOVÁ a Vladimír KOVAČIČ. *Nauka o textilních materiálech, díl.1, část.2. 1.vyd. Liberec: Vysoká škola strojní a textilní v Liberci, 1986*.
- [9] CHEN, Fujia; PORTER, David a VOLLRATH, Fritz. Structure and physical properties of silkworm cocoons. online. *Journal of The Royal Society Interface*. 2012, roč. 9, č. 74, s. 2299-2308. ISSN 1742-5689. Dostupné z: <https://doi.org/10.1098/rsif.2011.0887>. [cit. 2024-02-04].
- [10] LIU, Xinfang a ZHANG, Ke-Qin. Silk Fiber — Molecular Formation Mechanism, Structure- Property Relationship and Advanced Applications. online. *Oligomerization of Chemical and Biological Compounds*. 2014. ISBN 978-953-51-1617-2. Dostupné z: <https://doi.org/10.5772/57611>. [cit. 2024-04-18].
- [11] LIU, Jia; SHI, Lin; DENG, Yan; ZOU, Meizhen; CAI, Bo et al. Silk sericin-based materials for biomedical applications. online. *Biomaterials*. 2022, roč. 287. ISSN 01429612. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121638>. [cit. 2024-03-02].
- [12] VEPARI, Charu a KAPLAN, David. Silk as a biomaterial. online. *Progress in Polymer Science*. 2007, roč. 32, č. 8-9, s. 991-1007. ISSN 00796700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.013>. [cit. 2024-02-04].
- [13] KUNZ, Regina Inês; BRANCALHÃO, Rose Meire Costa; RIBEIRO, Lucinéia de Fátima Chasko a NATALI, Maria Raquel Marçal. Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications. online. *BioMed Research International*. 2016, roč. 2016, s. 1-19. ISSN 2314-6133. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2016/8175701>. [cit. 2024-03-02].
- [14] TERADA, Satoshi. Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma. online.

- Cytotechnology*. 2002, roč. 40, č. 13, s. 3-12. ISSN 09209069. Dostupné z: <https://doi.org/10.1023/A:1023993400608>. [cit. 2024-03-02].
- [15] ARAMWIT, Pornanong; KEONGAMAROON, Orathai; SIRITIENTONG, Tippawan; BANG, Nipaporn a SUPASYNDH, Ouppatham. Sericin cream reduces pruritus in hemodialysis patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled experimental study. online. *BMC Nephrology*. 2012, roč. 13, č. 1. ISSN 1471-2369. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1471-2369-13-119>. [cit. 2024-03-02].
- [16] KAEWKORN, Waraporn; LIMPEANCHOB, Nanteetip; TIYABOONCHAI, Waree; PONGCHAROEN, Sutatip a SUTHEERAWATTANANONDA, Manote. Effects of silk sericin on the proliferation and apoptosis of colon cancer cells. online. *Biological Research*. 2012, roč. 45, č. 1, s. 45-50. ISSN 0716-9760. Dostupné z: <https://doi.org/10.4067/S0716-97602012000100006>. [cit. 2024-03-02].
- [17] WANG, Yuan a ZHAG, Yu. Three-Layered Sericins around the Silk Fibroin Fiber from *Bombyx mori* Cocoon and their Amino Acid Composition. online. *Advanced Materials Research*. 2011, roč. 175-176, s. 158-163. ISSN 1662-8985. Dostupné z: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.175-176.158>. [cit. 2024-02-04].
- [18] RAZIKOVA, Malikakhon; RASULOVA, Durdona; MIRZAYEVA, Dilobar; MIRKHODJAYEVA, Dilobar a TURSUNOV, O. Separation and physico-chemical analysis of sericin protein from silk. online. *E3S Web of Conferences*. 2023, roč. 434. ISSN 2267-1242. Dostupné z: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202343403040>. [cit. 2024-02-04].
- [19] LUCAS, F.; SHAW, J. T. B. a SMITH, S. G. The amino acid sequence in a fraction of the fibroin of *Bombyx mori*. online. *Biochemical Journal*. 1957, roč. 66, č. 3, s. 468-479. ISSN 0306-3283. Dostupné z: <https://doi.org/10.1042/bj0660468>. [cit. 2024-02-04].
- [20] TAKASU, Yoko; YAMADA, Hiromi a TSUBOUCHI, Kozo. Isolation of Three Main Sericin Components from the Cocoon of the Silkworm, *Bombyx mori*. online. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, roč. 66, č. 12, s. 2715-2718. ISSN 0916-8451. Dostupné z: <https://doi.org/10.1271/bbb.66.2715>. [cit. 2024-02-04].
- [21] TAKASU, Yoko; HATA, Tamako; UCHINO, Keiro a ZHANG, Qiang. Identification of Ser2 proteins as major sericin components in the non-cocoon silk of *Bombyx mori*. online. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2010, roč. 40, č. 4, s. 339-344. ISSN 09651748. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2010.02.010>. [cit. 2024-02-04].
- [22] JO, Yoon Nam; PARK, Byung-Dae a UM, In Chul. Effect of storage and drying temperature on the gelation behavior and structural characteristics of sericin. online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015, roč. 81, s. 936-941. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.09.016>. [cit. 2024-05-05].
- [23] BOONPAVANITCHAKUL, Kanittha; BAST, Livia K.; BRUNS, Nico a MAGARAPHAN, Rathanawan. Silk Sericin-Poly(lactide) Protein-Polymer Conjugates as Biodegradable Amphiphilic Materials and Their Application in Drug Release Systems. online. *Bioconjugate Chemistry*. 2020, roč. 31, č. 10, s. 2312-2324. ISSN 1043-1802. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.0c00399>. [cit. 2024-05-05].

- [24] ARAMWIT, Pornanong; DAMRONGSAKKUL, Siriporn; KANOKPANONT, Sorada a SRICHANA, Teerapol. Properties and antityrosinase activity of sericin from various extraction methods. online. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2010, roč. 55, č. 2, s. 91-98. ISSN 0885-4513. Dostupné z: <https://doi.org/10.1042/BA20090186>. [cit. 2024-02-04].
- [25] WALTERS, Roy H. a HOUGEN, O.A. Silk Degumming. online. *Textile Research*. 1934, roč. 5, č. 2, s. 92-104. ISSN 0096-5928. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/004051753400500213>. [cit. 2024-03-02].
- [26] GULRAJANI, M L. Degumming of silk. online. *Review of Progress in Coloration and Related Topics*. 1992, roč. 22, č. 1, s. 79-89. ISSN 0557-9325. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1478-4408.1992.tb00091.x>. [cit. 2024-02-04].
- [27] ARAMI, Mokhtar; RAHIMI, Sharam; MIVEHIE, Leila; MAZAHERI, Firoozmehr a MAHMOODI, Niyaz. Degumming of Persian silk with mixed proteolytic enzymes. online. *Journal of Applied Polymer Science*. 2007, roč. 106, č. 1, s. 267-275. ISSN 0021-8995. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/app.26492>. [cit. 2024-02-04].
- [28] WANG, Wei-Hsun; LIN, Wen-Shin; SHIH, Chia-Hung; CHEN, Cheng-You; KUO, Siao-Hong et al. Functionality of Silk Cocoon (*Bombyx mori* L.) Sericin Extracts Obtained through High-Temperature Hydrothermal Method. online. *Materials*. 2021, roč. 14, č. 18. ISSN 1996-1944. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ma14185314>. [cit. 2024-02-04].
- [29] TYAGI, Leena; SHARMA, GP; VERMA, RC; JAIN, SK; MURDIA, LK et al. Infrared heating in food processing: An overview. online. *International Journal of Chemical Studies*. 2020, roč. 8, č. 3, s. 327-336. ISSN 23498528. Dostupné z: <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i3e.9248>. [cit. 2024-02-04].
- [30] SNEHA, ; PANDEY, Jay Prakash a PANDEY, Dev Mani. Evaluating the role of trypsin in silk degumming: An in silico approach. online. *Journal of Biotechnology*. 2022, roč. 359, s. 35-47. ISSN 01681656. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.09.007>. [cit. 2024-05-15].
- [31] ANAND, Preeti; PANDEY, Jay Prakash a PANDEY, Dev Mani. Study on cocoonase, sericin, and degumming of silk cocoon: computational and experimental. online. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2021, roč. 19, č. 1. ISSN 1687157X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00125-2>. [cit. 2024-05-15].
- [32] GULRAJANI, M L. Degumming of silk. online. *Review of Progress in Coloration and Related Topics*. 1992, roč. 22, č. 1, s. 79-89. ISSN 0557-9325. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1478-4408.1992.tb00091.x>. [cit. 2024-02-04].
- [33] M. Nakpathom, B. Somboon a N. Narumol, "Papain enzymatic degumming of Thai *Bombyx mori* silk fibers", *Journal of Microscopy Society of Thailand*, sv. 23, č. 1, s. 142–146, 2009.
- [34] GUPTA, Deepti; AGRAWAL, Anjali; CHAUDHARY, Harshita; GULRAJANI, Mohan a GUPTA, Charu. Cleaner process for extraction of sericin using infrared. online. *Journal of Cleaner Production*. 2013, roč. 52, s. 488-494. ISSN 09596526. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.03.016>. [cit. 2024-04-18].
- [35] KURIOKA, Akira; KURIOKA, Fujie a YAMAZAKI, Masayoshi. Characterization of Sericin Powder Prepared from Citric Acid-degraded Sericin Polypeptides of the Silkworm, *Bombyx Mori*. online. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, roč. 68, č. 4, s. 774-780. ISSN 0916-8451. Dostupné z: <https://doi.org/10.1271/bbb.68.774>. [cit. 2024-04-18].

- [36] FREDDI, Giuliano; ALLERA, Giulia a CANDIANI, Guido. Degumming of silk fabrics with tartaric acid. online. *Journal of the Society of Dyers and Colourists*. 1996, roč. 112, č. 7-8, s. 191-195. ISSN 0037-9859. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1478-4408.1996.tb01817.x>. [cit. 2024-04-18].
- [37] FREDDI, Giuliano; MOSSOTTI, Raffaella a INNOCENTI, Riccardo. Degumming of silk fabric with several proteases. online. *Journal of Biotechnology*. 2003, roč. 106, č. 1, s. 101-112. ISSN 01681656. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2003.09.006>. [cit. 2024-04-18].
- [38] REDDY, M. Sai Bhargava; PONNAMMA, Deepalekshmi; CHOUDHARY, Rajan a SADASIVUNI, Kishor Kumar. A Comparative Review of Natural and Synthetic Biopolymer Composite Scaffolds. online. *Polymers*. 2021, roč. 13, č. 7. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13071105>. [cit. 2024-03-02].
- [39] CACOPARDO, Ludovica. Biomaterials and biocompatibility. online. *Human Orthopaedic Biomechanics*. 2022, s. 341-359. ISBN 9780128244814. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824481-4.00038-X>. [cit. 2024-04-21].
- [40] GIL, Eun Seok; PANILAITIS, Bruce; BELLAS, Evangelia a KAPLAN, David L. Functionalized Silk Biomaterials for Wound Healing. online. *Advanced Healthcare Materials*. 2013, roč. 2, č. 1, s. 206-217. ISSN 2192-2640. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/adhm.201200192>. [cit. 2024-03-02].
- [41] ARAMWIT, Pornanong; KANOKPANONT, Sorada; DE-EKNAMKUL, Wanchai a SRICHANA, Teerapol. Monitoring of inflammatory mediators induced by silk sericin. online. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2009, roč. 107, č. 5, s. 556-561. ISSN 13891723. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2008.12.012>. [cit. 2024-03-02].
- [42] DASH, Biraja C.; MANDAL, Biman B.; KUNDU, S.C. a SRICHANA, Teerapol. Silk gland sericin protein membranes: Fabrication and characterization for potential biotechnological applications. online. *Journal of Biotechnology*. 2009, roč. 144, č. 4, s. 321-329. ISSN 01681656. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.09.019>. [cit. 2024-03-02].
- [43] HOLLAND, Chris; NUMATA, Keiji; RNJAK-KOVACINA, Jelena a SEIB, F. Philipp. The Biomedical Use of Silk: Past, Present, Future. online. *Advanced Healthcare Materials*. 2019, roč. 8, č. 1. ISSN 2192-2640. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/adhm.201800465>. [cit. 2024-03-02].
- [44] CAO, Yang a WANG, Bochu. Biodegradation of Silk Biomaterials. online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2009, roč. 10, č. 4, s. 1514-1524. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms10041514>. [cit. 2024-03-02].
- [45] ANDERSON, James M.; RODRIGUEZ, Analiz a CHANG, David T. Foreign body reaction to biomaterials. online. *Seminars in Immunology*. 2008, roč. 20, č. 2, s. 86-100. ISSN 10445323. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.11.004>. [cit. 2024-03-02].
- [46] ZHAO, X. Antibacterial bioactive materials. online. *Bioactive Materials in Medicine*. 2011, s. 97-123. ISBN 9781845696245. Dostupné z: <https://doi.org/10.1533/9780857092939.2.97>. [cit. 2024-03-02].
- [47] BOWLER, P. G.; DUERDEN, B. I. a ARMSTRONG, D. G. Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management. online. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001, roč. 14, č. 2, s. 244-269. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.244-269.2001>. [cit. 2024-03-02].

- [48] DINI, Irene; DE BIASI, Margherita-Gabriella a MANCUSI, Andrea. An Overview of the Potentialities of Antimicrobial Peptides Derived from Natural Sources. online. *Antibiotics*. 2022, roč. 11, č. 11. ISSN 2079-6382. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111483>. [cit. 2024-05-15].
- [49] SILVA, Andreia S.; COSTA, Elisabete C.; REIS, Sara; SPENCER, Carina; CALHELHA, Ricardo C. et al. Silk Sericin: A Promising Sustainable Biomaterial for Biomedical and Pharmaceutical Applications. online. *Polymers*. 2022, roč. 14, č. 22. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym14224931>. [cit. 2024-05-15].
- [50] JASSIM, Khalid Nassif; AL-SAREE, Omar Jaffar. Study of the antimicrobial activity of silk sericin from silkworm *Bombyx mori*. *Iraqi Journal of Community Medicine*, 2010, 23.2: 130-133.
- [51] ARAMWIT, Pornanong; NAPAVICHAYANUM, Supamas; PIENPINIJTHAM, Prompong; RASMI, Yousef a BANG, Nipaporn. Antibiofilm activity and cytotoxicity of silk sericin against *Streptococcus mutans* bacteria in biofilm: an in vitro study. online. *Journal of Wound Care*. 2020, roč. 29, č. 4, s. 25-35. ISSN 0969-0700. Dostupné z: <https://doi.org/10.12968/jowc.2020.29.Sup4.S25>. [cit. 2024-03-02].
- [52] TAKECHI, TAYORI; WADA, RITSUKO; FUKUDA, TSUBASA; HARADA, KAZUKI a TAKAMURA, HITOSHI. Antioxidant activities of two sericin proteins extracted from cocoon of silkworm (*Bombyx mori*) measured by DPPH, chemiluminescence, ORAC and ESR methods. online. *Biomedical Reports*. 2014, roč. 2, č. 3, s. 364-369. ISSN 2049-9434. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/br.2014.244>. [cit. 2024-03-02].
- [53] KATO, Norihisa; SATO, Seiji; YAMANAKA, Atsushi; YAMADA, Hideyuki; FUWA, Naozumi et al. Silk Protein, Sericin, Inhibits Lipid Peroxidation and Tyrosinase Activity. online. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, roč. 62, č. 1, s. 145-147. ISSN 0916-8451. Dostupné z: <https://doi.org/10.1271/bbb.62.145>. [cit. 2024-03-02].
- [54] ZHAORIGETU, Siqin; YANAKA, Noriyuki; SASAKI, Masahiro; WATANABE, Hiromitsu a KATO, Norihisa. Inhibitory effects of silk protein, sericin on UVB-induced acute damage and tumor promotion by reducing oxidative stress in the skin of hairless mouse. online. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2003, roč. 71, č. 1-3, s. 11-17. ISSN 10111344. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(03\)00092-7](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(03)00092-7). [cit. 2024-03-02].
- [55] GORE, Prakash M.; NAEBE, Minoo; WANG, Xungai a KANDASUBRAMANIAN, Balasubramanian. Progress in silk materials for integrated water treatments: Fabrication, modification and applications. online. *Chemical Engineering Journal*. 2019, roč. 374, s. 437-470. ISSN 13858947. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.05.163>. [cit. 2024-03-02].
- [56] ZHAORIGETU, Siqin; SASAKI, Masahiro; WATANABE, Hiromitsu a KATO, Norihisa. Supplemental Silk Protein, Sericin, Suppresses Colon Tumorigenesis in 1,2-Dimethylhydrazine-Treated Mice by Reducing Oxidative Stress and Cell Proliferation. online. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, roč. 65, č. 10, s. 2181-2186. ISSN 0916-8451. Dostupné z: <https://doi.org/10.1271/bbb.65.2181>. [cit. 2024-04-01].
- [57] ZHAORIGETU, Siquin; SASAKI, Masahiro a KATO, Norihisa. Consumption of Sericin Suppresses Colon Oxidative Stress and Aberrant Crypt Foci in 1,2-

- Dimethylhydrazine-Treated Rats by Colon Undigested Sericin. online. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2007, roč. 53, č. 3, s. 297-300. ISSN 0301-4800. Dostupné z: <https://doi.org/10.3177/jnsv.53.297>. [cit. 2024-04-01].
- [58] ZHAORIGETU, Siqin, et al. Silk protein, sericin, suppresses DMBA-TPA-induced mouse skin tumorigenesis by reducing oxidative stress, inflammatory responses and endogenous tumor promoter TNF- α . *Oncology reports*, 2003, 10.3: 537-543.
- [59] SASAKI, Masahiro; YAMADA, Hideyuki a KATO, Norihisa. Consumption of silk protein, sericin elevates intestinal absorption of zinc, iron, magnesium and calcium in rats. online. *Nutrition Research*. 2000, roč. 20, č. 10, s. 1505-1511. ISSN 02715317. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)80031-7](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(00)80031-7). [cit. 2024-04-14].
- [60] SASAKI, Masahiro; YAMADA, Hideyuki a KATO, Norihisa. A Resistant Protein, Sericin Improves Atropine-Induced Constipation in Rats. online. *Food Science and Technology Research*. 2000, roč. 6, č. 4, s. 280-283. ISSN 1344-6606. Dostupné z: <https://doi.org/10.3136/fstr.6.280>. [cit. 2024-04-14].
- [61] OKAZAKI, Yukako; KAKEHI, Shoko; XU, Yonghui; TSUJIMOTO, Kazuhisa; SASAKI, Masahiro et al. Consumption of Sericin Reduces Serum Lipids, Ameliorates Glucose Tolerance and Elevates Serum Adiponectin in Rats Fed a High-Fat Diet. online. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, roč. 74, č. 8, s. 1534-1538. ISSN 0916-8451. Dostupné z: <https://doi.org/10.1271/bbb.100065>. [cit. 2024-04-14].
- [62] ONSA-ARD, Amnart; SHIMBHU, Dawan; TOCHARUS, Jiraporn; SUTHEERAWATTANANONDA, Manote; PANTAN, Rungusa et al. Hypotensive and Vasorelaxant Effects of Sericin-Derived Oligopeptides in Rats. online. *ISRN Pharmacology*. 2013, roč. 2013, s. 1-8. ISSN 2090-5173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2013/717529>. [cit. 2024-04-14].
- [63] TAMADA, Yasushi; SANO, Masanari; NIWA, Kazuki; IMAI, Toshio a YOSHINO, Gen. Sulfation of silk sericin and anticoagulant activity of sulfated sericin. online. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2012, roč. 15, č. 8, s. 971-980. ISSN 0920-5063. Dostupné z: <https://doi.org/10.1163/1568562041526469>. [cit. 2024-04-14].
- [64] SANO, Masanari; TAMADA, Yasushi; NIWA, Kazuki; MORITA, Toshisuke a YOSHINO, Gen. Sulfated Sericin is a Novel Anticoagulant Influencing the Blood Coagulation Cascade. online. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2012, roč. 20, č. 5-6, s. 773-783. ISSN 0920-5063. Dostupné z: <https://doi.org/10.1163/156856209X426853>. [cit. 2024-04-21].
- [65] AKTURK, Omer; TEZCANER, Aysen; BILGILI, Hasan; DEVECI, M. Salih; GECIT, M. Rusen et al. Evaluation of sericin/collagen membranes as prospective wound dressing biomaterial. online. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2011, roč. 112, č. 3, s. 279-288. ISSN 13891723. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.05.014>. [cit. 2024-03-02].
- [66] LAMBONI, Lallepak; LI, Ying; LIU, Jianfeng a YANG, Guang. Silk Sericin-Functionalized Bacterial Cellulose as a Potential Wound-Healing Biomaterial. online. *Biomacromolecules*. 2016, roč. 17, č. 9, s. 3076-3084. ISSN 1525-7797. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b00995>. [cit. 2024-03-02].
- [67] CAI, Rui; TAO, Gang; HE, Huawei; SONG, Kai; ZUO, Hua et al. One-Step Synthesis of Silver Nanoparticles on Polydopamine-Coated Sericin/Polyvinyl Alcohol Composite Films for Potential Antimicrobial Applications. online.

- Molecules*. 2017, roč. 22, č. 5. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules22050721>. [cit. 2024-03-02].
- [68] ZHANG, H.P.; WANG, X.Y.; MIN, S.J.; MANDAL, M.; YANG, M.Y. et al. Hydroxyapatite/sericin composite film prepared through mineralization of flexible ethanol-treated sericin film with simulated body fluids. online. *Ceramics International*. 2014, roč. 40, č. 1, s. 985-991. ISSN 02728842. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.06.095>. [cit. 2024-03-02].
- [69] JASMINE, S. a MANDAL, B.B. Types and properties of non-mulberry silk biomaterials for tissue engineering applications. online. *Silk Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2014, s. 275-298. ISBN 9780857096999. Dostupné z: <https://doi.org/10.1533/9780857097064.2.275>. [cit. 2024-03-02].
- [70] KUNDU, Banani a KUNDU, Subhas C. Silk sericin/polyacrylamide in situ forming hydrogels for dermal reconstruction. online. *Biomaterials*. 2012, roč. 33, č. 30, s. 7456-7467. ISSN 01429612. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.06.091>. [cit. 2024-05-05].
- [71] YANG, Chaochao; XUE, Rui; ZHANG, Qingsong; YANG, Shulin; LIU, Pengfei et al. Nanoclay cross-linked semi-IPN silk sericin/poly(NIPAm/LMSH) nanocomposite hydrogel: An outstanding antibacterial wound dressing. online. *Materials Science and Engineering: C*. 2017, roč. 81, s. 303-313. ISSN 09284931. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.08.008>. [cit. 2024-03-02].
- [72] YANG, Meirong; WANG, Yejing; TAO, Gang; CAI, Rui; WANG, Peng et al. Fabrication of Sericin/Agrose Gel Loaded Lysozyme and Its Potential in Wound Dressing Application. online. *Nanomaterials*. 2018, roč. 8, č. 4. ISSN 2079-4991. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nano8040235>. [cit. 2024-03-02].
- [73] SAPRU, Sunaina; DAS, Subhayan; MANDAL, Mahitosh; GHOSH, Ananta K. a KUNDU, Subhas C. Nonmulberry silk protein sericin blend hydrogels for skin tissue regeneration - in vitro and in vivo. online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019, roč. 137, s. 545-553. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.121>. [cit. 2024-05-05].
- [74] ZHANG, Yeshun; LIU, Jia; HUANG, Lei; WANG, Zheng a WANG, Lin. Design and performance of a sericin-alginate interpenetrating network hydrogel for cell and drug delivery. online. *Scientific Reports*. 2015, roč. 5, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/srep12374>. [cit. 2024-05-05].
- [75] ZHANG, Meng; WANG, Dong; JI, Nana; LEE, Shaoxiang; WANG, Guohui et al. Bioinspired Design of Sericin/Chitosan/Ag@MOF/GO Hydrogels for Efficiently Combating Resistant Bacteria, Rapid Hemostasis, and Wound Healing. online. *Polymers*. 2021, roč. 13, č. 16. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13162812>. [cit. 2024-03-02].
- [76] ABDULGHANI, Saba a MITCHELL, Geoffrey. Biomaterials for In Situ Tissue Regeneration: A Review. online. *Biomolecules*. 2019, roč. 9, č. 11. ISSN 2218-273X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biom9110750>. [cit. 2024-03-02].
- [77] SIRITIENHONG, Tippawan; RATANAVARAPORN, Juthamas a ARAMWIT, Pornanong. Development of ethyl alcohol-precipitated silk sericin/polyvinyl alcohol scaffolds for accelerated healing of full-thickness wounds. online. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012, roč. 439, č. 1-2, s. 175-186. ISSN 03785173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.09.043>. [cit. 2024-03-02].
- [78] JIAYAO, Zhuang; GUANSHAN, Zhou; JINCHI, Zhang; YUYIN, Chen a YONGQIANG, Zhu. Anthera ea pernyi silk sericin mediating biomimetic nucleation

- and growth of hydroxylapatite crystals promoting bone matrix formation. online. *Microscopy Research and Technique*. 2017, roč. 80, č. 3, s. 305-311. ISSN 1059-910X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jemt.22793>. [cit. 2024-03-02].
- [79] NISHIDA, Ayumu; YAMADA, Masaki; KANAZAWA, Takanori; TAKASHIMA, Yuuki; OUCHI, Kiyohisa et al. Sustained-release of protein from biodegradable sericin film, gel and sponge. online. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, roč. 407, č. 1-2, s. 44-52. ISSN 03785173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.01.006>. [cit. 2024-04-02].
- [80] WANG, Jian; LI, Xiaolin; SONG, Yu; SU, Qiangfei; XIAOHALATI, Xiakeerzhati et al. Injectable silk sericin scaffolds with programmable shape-memory property and neuro-differentiation-promoting activity for individualized brain repair of severe ischemic stroke. online. *Bioactive Materials*. 2021, roč. 6, č. 7, s. 1988-1999. ISSN 2452199X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.12.017>. [cit. 2024-03-02].
- [81] XIE, Hongjian; YANG, Wen; CHEN, Jianghai; ZHANG, Jinxiang; LU, Xiaochen et al. A Silk Sericin/Silicone Nerve Guidance Conduit Promotes Regeneration of a Transected Sciatic Nerve. online. *Advanced Healthcare Materials*. 2015, roč. 4, č. 15, s. 2195-2205. ISSN 2192-2640. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/adhm.201500355>. [cit. 2024-05-05].
- [82] ZHANG, Lei; YANG, Wen; XIE, Hongjian; WANG, Hui; WANG, Jian et al. Sericin Nerve Guidance Conduit Delivering Therapeutically Repurposed Clobetasol for Functional and Structural Regeneration of Transected Peripheral Nerves. online. 2019, roč. 5, č. 3, s. 1426-1439. ISSN 2373-9878. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b01297>. [cit. 2024-03-02].
- [83] LI, Xiaolin; YANG, Wen; XIE, Hongjian; WANG, Jian; ZHANG, Lei et al. CNT/Sericin Conductive Nerve Guidance Conduit Promotes Functional Recovery of Transected Peripheral Nerve Injury in a Rat Model. online. 2020, roč. 12, č. 33, s. 36860-36872. ISSN 1944-8244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acscami.0c08457>. [cit. 2024-03-02].
- [84] DE JONG, . Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. online. *International Journal of Nanomedicine*. s. 91-98. ISSN 1178-2013. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/IJN.S596>. [cit. 2024-03-02].
- [85] HU, Doudou; LI, Ting; XU, Zongpu; LIU, Di; YANG, Mingying et al. Self-stabilized silk sericin-based nanoparticles: In vivo biocompatibility and reduced doxorubicin-induced toxicity. online. *Acta Biomaterialia*. 2018, roč. 74, s. 385-396. ISSN 17427061. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.05.024>. [cit. 2024-03-02].
- [86] PARISI, Ortensia I.; FIORILLO, Marco; SCRIVANO, Luca; SINICROPI, Maria S.; DOLCE, Vincenza et al. Sericin/Poly(ethylcyanoacrylate) Nanospheres by Interfacial Polymerization for Enhanced Bioefficacy of Fenofibrate: In Vitro and In Vivo Studies. online. *Biomacromolecules*. 2015, roč. 16, č. 10, s. 3126-3133. ISSN 1525-7797. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b00746>. [cit. 2024-03-02].
- [87] GUO, Weihong; DENG, Lizhi; CHEN, Zhaoyu; CHEN, Zhian; YU, Jiang et al. Vitamin B12-conjugated sericin micelles for targeting CD320-overexpressed gastric cancer and reversing drug resistance. online. *Nanomedicine*. 2019, roč. 14, č. 3, s. 353-370. ISSN 1743-5889. Dostupné z: <https://doi.org/10.2217/nnm-2018-0321>. [cit. 2024-03-02].

- [88] LIU, Jia; DENG, Yan; FU, Daan; YUAN, Ye; LI, Qilin et al. Sericin microparticles enveloped with metal-organic networks as a pulmonary targeting delivery system for intra-tracheally treating metastatic lung cancer. online. *Bioactive Materials*. 2021, roč. 6, č. 1, s. 273-284. ISSN 2452199X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.08.006>. [cit. 2024-03-02].
- [89] LIU, Zhaogang; CAI, Yurong; JIA, Yaru; LIU, Lin; KONG, Xiangdong et al. One-Step Synthesis of Natural Silk Sericin-Based Microcapsules with Bionic Structures. online. *Macromolecular Rapid Communications*. 2014, roč. 35, č. 19, s. 1668-1672. ISSN 1022-1336. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/marc.201400304>. [cit. 2024-03-02].
- [90] NAYAK, Sunita; DEY, Sanchareeka a KUNDU, Subhas C. Silk sericin–alginate–chitosan microcapsules: Hepatocytes encapsulation for enhanced cellular functions. online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014, roč. 65, s. 258-266. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.01.042>. [cit. 2024-03-02].
- [91] BRESLAUER, D.N. a KAPLAN, D.L. Silks. online. *Polymer Science: A Comprehensive Reference*. 2012, s. 57-69. ISBN 9780080878621. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53349-4.00233-8>. [cit. 2024-05-12].
- [92] CHOLLAKUP, Rungsima; UTTAYARAT, Pimporn; CHWOROS, Arkadiusz a SMITTHIPONG, Wirasak. Noncovalent Sericin-Chitosan Scaffold: Physical Properties and Low Cytotoxicity Effect. online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, roč. 21, č. 3. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms21030775>. [cit. 2024-05-15].
- [93] HUANG, Sha a FU, Xiaobing. Naturally derived materials-based cell and drug delivery systems in skin regeneration. online. *Journal of Controlled Release*. 2010, roč. 142, č. 2, s. 149-159. ISSN 01683659. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.10.018>. [cit. 2024-04-01].
- [94] DASH, Biraja C.; MANDAL, Biman B. a KUNDU, S.C. Silk gland sericin protein membranes: Fabrication and characterization for potential biotechnological applications. online. *Journal of Biotechnology*. 2009, roč. 144, č. 4, s. 321-329. ISSN 01681656. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.09.019>. [cit. 2024-04-01].
- [95] LAMBONI, Lallepak; GAUTHIER, Mario; YANG, Guang a WANG, Qun. Silk sericin: A versatile material for tissue engineering and drug delivery. online. *Biotechnology Advances*. 2015, roč. 33, č. 8, s. 1855-1867. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.10.014>. [cit. 2024-03-23].
- [96] MANDAL, Biman B.; PRIYA, Anjana S. a KUNDU, S.C. Novel silk sericin/gelatin 3-D scaffolds and 2-D films: Fabrication and characterization for potential tissue engineering applications. online. *Acta Biomaterialia*. 2009, roč. 5, č. 8, s. 3007-3020. ISSN 17427061. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.03.026>. [cit. 2024-04-01].
- [97] ARAMWIT, Pornanong; SIRITIENTONG, Tippawan; KANOKPANONT, Sorada a SRICHANA, Teerapol. Formulation and characterization of silk sericin–PVA scaffold crosslinked with genipin. online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2010, roč. 47, č. 5, s. 668-675. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.08.015>. [cit. 2024-04-01].
- [98] ZHANG, H.P.; WANG, X.Y.; MIN, S.J.; MANDAL, M.; YANG, M.Y. et al. Hydroxyapatite/sericin composite film prepared through mineralization of flexible

- ethanol-treated sericin film with simulated body fluids. online. *Ceramics International*. 2014, roč. 40, č. 1, s. 985-991. ISSN 02728842. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.06.095>. [cit. 2024-04-01].
- [99] YANG, Mingying; SHUAI, Yajun; ZHANG, Can; CHEN, Yuyin; ZHU, Liangjun et al. Biomimetic Nucleation of Hydroxyapatite Crystals Mediated by *Antheraea pernyi* Silk Sericin Promotes Osteogenic Differentiation of Human Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells. online. *Biomacromolecules*. 2014, roč. 15, č. 4, s. 1185-1193. ISSN 1525-7797. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/bm401740x>. [cit. 2024-05-05].
- [100] LIU, Jia; LIU, Yukan; KONG, Ying; YAO, Juming a CAI, Yurong. Formation of vaterite regulated by silk sericin and its transformation towards hydroxyapatite microsphere. online. *Materials Letters*. 2013, roč. 110, s. 221-224. ISSN 0167577X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.08.021>. [cit. 2024-05-05].
- [101] NAYAK, Sunita; DEY, Tuli; NASKAR, Deboki a KUNDU, Subhas C. The promotion of osseointegration of titanium surfaces by coating with silk protein sericin. online. *Biomaterials*. 2013, roč. 34, č. 12, s. 2855-2864. ISSN 01429612. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.019>. [cit. 2024-05-05].
- [102] LIU, Jia; LIU, Yukan; KONG, Ying; YAO, Juming a CAI, Yurong. Formation of vaterite regulated by silk sericin and its transformation towards hydroxyapatite microsphere. online. *Materials Letters*. 2013, roč. 110, s. 221-224. ISSN 0167577X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.08.021>. [cit. 2024-04-01].
- [103] DINESCU, Sorina; GĂLĂȚEANU, Bianca; ALBU, Mădălina; LUNGU, Adriana; RADU, Eugen et al. Biocompatibility Assessment of Novel Collagen-Sericin Scaffolds Improved with Hyaluronic Acid and Chondroitin Sulfate for Cartilage Regeneration. online. *BioMed Research International*. 2013, roč. 2013, s. 1-11. ISSN 2314-6133. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2013/598056>. [cit. 2024-05-05].
- [104] DINESCU, Sorina; GALATEANU, Bianca; ALBU, Madalina; CIMPEAN, Anisoara; DINISCHIOTU, Anca et al. Sericin Enhances the Bioperformance of Collagen-Based Matrices Preseeded with Human-Adipose Derived Stem Cells (hADSCs). online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013, roč. 14, č. 1, s. 1870-1889. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms14011870>. [cit. 2024-04-01].
- [105] YANG, Yu; WANG, Shengpeng; WANG, Yitao; WANG, Xiaohui; WANG, Qun et al. Advances in self-assembled chitosan nanomaterials for drug delivery. online. *Biotechnology Advances*. 2014, roč. 32, č. 7, s. 1301-1316. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.07.007>. [cit. 2024-05-05].
- [106] NISHIDA, Ayumu; NAGANUMA, Tsuyoshi; KANAZAWA, Takanori; TAKASHIMA, Yuuki; YAMADA, Masaki et al. The characterization of protein release from sericin film in the presence of an enzyme: Towards fibroblast growth factor-2 delivery. online. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, roč. 414, č. 1-2, s. 193-202. ISSN 03785173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.05.033>. [cit. 2024-04-02].
- [107] WU, Wen a WANG, Dong-sheng. A fast pH-responsive IPN hydrogel: Synthesis and controlled drug delivery. online. *Reactive and Functional Polymers*. 2010, roč. 70, č. 9, s. 684-691. ISSN 13815148. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2010.06.002>. [cit. 2024-04-02].
- [108] ZHANG, Yu-Qing; MA, Yan; XIA, Yun-Yue; SHEN, Wei-De; MAO, Jian-Ping et al. Silk sericin–insulin bioconjugates: Synthesis, characterization and biological

- activity. online. *Journal of Controlled Release*. 2006, roč. 115, č. 3, s. 307-315. ISSN 01683659. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.08.019>. [cit. 2024-05-05].
- [109] OH, Hanjin; LEE, Ji Young; KIM, Moo Kon; UM, In Chul a LEE, Ki Hoon. Refining hot-water extracted silk sericin by ethanol-induced precipitation. online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2011, roč. 48, č. 1, s. 32-37. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.09.008>. [cit. 2024-04-02].
- [110] NAYAK, Sunita; DEY, Sanchareeka a KUNDU, Subhas C. Silk sericin–alginate–chitosan microcapsules: Hepatocytes encapsulation for enhanced cellular functions. online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014, roč. 65, s. 258-266. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.01.042>. [cit. 2024-04-02].
- [111] SONG, Yu; ZHANG, Cheng; ZHANG, Jinxiang; SUN, Ning; HUANG, Kun et al. An injectable silk sericin hydrogel promotes cardiac functional recovery after ischemic myocardial infarction. online. *Acta Biomaterialia*. 2016, roč. 41, s. 210-223. ISSN 17427061. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.05.039>. [cit. 2024-03-23].

SEZNAM ZKRATEK

HTHP vysokoteplotní s vysokotlaká metoda

IR infračervený ohřev

ECM extracelulární matrix

IL1 β interleukin 1 beta

TNF α tumor nekrotizující faktor alfa

IgA imunoglobulin A

HA hydroxyapatit

DOX doxorubicin

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Zdroje hedvábného vlákna. (A) Bourec morušový, (B) housenka bource morušového a kokony [4].....</i>	<i>12</i>
<i>Obrázek 2: Životní cyklus bource morušového (částečně upraveno) [6]</i>	<i>13</i>
<i>Obrázek 3: Struktura hedvábného vlákna [4].....</i>	<i>15</i>
<i>Obrázek 4: Ukázka morfologie jednotlivých formátů sericinu, (A) film, (B) nanočásticová vlákna, (C) mikročástice, (D) hydrogel, (E) scaffold [91; 92].....</i>	<i>34</i>

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Složky hedvábného vlákna. [11]	14
Tabulka 2: Distribuce aminokyselin v sericinu [14; 15; 16]	17
Tabulka 3: Různé metody extrakce sericinu (částečně upraveno).....	21

