

Review article

Silk protein fibroin and its applications in health

Ayça ÖZDOĞAN¹, Ufuk KOCA ÇALIŞKAN¹*, Gökşen Dilşat DURBİLMEZ¹, Şebnem KÜÇÜK²¹Gazi University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, 06330, Ankara, Turkey²Febis Biotechnology, Kızılırmak neighborhood 1431. Street 27/2, Ankara, Turkey

*Corresponding author: ukoca@gazi.edu.tr

Abstract: Silk fibers are made by silkworms and spiders, produced in the form of non-woven fiber with protein structure. The silk obtained from the *Bombyx mori* silkworm, which is the most widely used, has many different and attractive features that have been won recognition for 5,000 years. When the raw silk fiber is examined, the fibroin layer is seen on the inside of the fiber and the layer of sericin covering the fiber on the outer part. 72-81% of the raw silk fiber is fibroin and the remaining 19-28% is sericin. The sericin layer, covering the perfect brightness of the fibroin part of the silk, gives the silk fiber a yellowish color and stiffness. Silk fibroin has been the subject of biotechnological and biomedical studies with its elastic, strong, biocompatible, biodegradable and thermally stable properties. The fact that silk is easily available in fiber forms from cocoons is the preferred reason for silk fibroin; It can be obtained in different forms such as gel, powder or membrane and thus varies in application areas. Its dense or porous structure, controllable solubility and oxygen permeability, the diversity of the usage area and the availability of the material have enabled the use of silk in many different sectors except the textile sector, which is the traditional application area. In this review, structure of silk protein fibroin from *B. mori* and its usage in health were compiled.

Keywords: *Bombyx mori*, silk protein, fibroin, silk fiber

Citing: Özdoğan, A., Koca Çalışkan, U., Durbilmez, G.D., & Küçük Ertürk, Ş. (2021). Silk Protein Fibroin and its Applications in Health. *Acta Biologica Turcica*, 34(2): 105-122.

İpek proteinin sağlık alanında kullanımı

Özet: İpek lifleri protein yapıda olup, ipek böcekleri ve örümcekler tarafından aralıksız lif formunda üretilirler. En yaygın şekilde kullanılan ise ipek böceğinden (*Bombyx mori*) elde edilen ipektir. İnsanoğlu tarafından yaklaşık beş bin yıldır kullanılan bu ipek, diğerlerinden farklı ve çekici pek çok özelliğe sahiptir. Ham ipek lifinin iç kısmında %72-81'ini oluşturan fibroin tabakası, dış kısmında ise lifi kaplayan ve %19-28'ini oluşturan serisin tabakası görülür. Serisin tabakası, ipeğin fibroin kısmının mükemmel parlaklığını örterek, ipeğe life sarımsı bir renk verir ve sert bir tutum kazandırır. İpek fibroini elastik, güçlü, biyoyumlu, biyobozunur ve termal stabil özellikleri ile biyoteknolojik ve biyomedikal çalışmalara konu olmuştur. İpek kozalarından enzimatik işlemlerle jel, toz veya membran gibi farklı formlarda ipek proteini elde edilebilir ve bu yönüyle tıbbi uygulamalar için katma değerli bir biyomateryal olarak sınıflandırılır. Yoğun veya gözenekli yapısı, kontrol edilebilir çözünürlük ve oksijen geçirgenliği, kullanım alanının çeşitliliği ve malzemenin kolay erişilebilir olması ipeğin, geleneksel kullanım alanı olan tekstil sektörü dışında da birçok farklı sektörde kullanımına olanak vermiştir. Yapılan bu çalışmada, *B. mori*'den elde edilen ipek proteininin yapısı ve sağlık alanında kullanımı ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Bombyx mori*, ipek proteini, fibroin, ipek lifi

Giriş

İpek böceği (*Bombyx mori*); ördüğü kozalardan ipek elde edilen, dut yapraklarıyla beslenen, kanatları pullu böcekler sınıfından bir cins kelebek tırtılı olarak tanımlanabilir. M.Ö. 2000 yıllarında fark edilen ipek böceğinin kozası ve lifleri; yumuşaklığı ve parlaklığıyla dikkat çekmiştir. İpek böceğinin anavatanı bugünkü Çin coğrafyası olmakla birlikte, M.S. 419 yılından itibaren Batı dünyasına da taşınmaya başlandığı, Bizans imparatorluğunun hüküm sürdüğü coğrafyaya M.S. 552 yılında ulaştığı belirtilmektedir (Mondal ve ark., 2007). İpek böceğinin ipek kozasından elde edilen ipek lifleri, doğal makro molekül proteinler olan serisin ve fibroinden oluşmaktadır. Serisin, fibroinin etrafını yapışkan yapısı sayesinde sarmakta ve ipek liflerini bir arada tutmaktadır. Ham ipek liflerinde bulunan yağ, anorganik maddeler ve boyar maddelerin tamamına yakın bir kısmı fibroini saran serisin tabakasında bulunmaktadır. Serisinin uzaklaştırılmasıyla elde edilen fibroin; biyosensör geliştirilmesi, kontakt lens, yapay kornea, yanık ve yara pansuman malzemesi, yapay organlar, doku mühendisliğinde destekleyici yapıların oluşturulması ve ilaç salımı gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Yu-Qing ve ark., 2004; Sun ve ark., 2021).

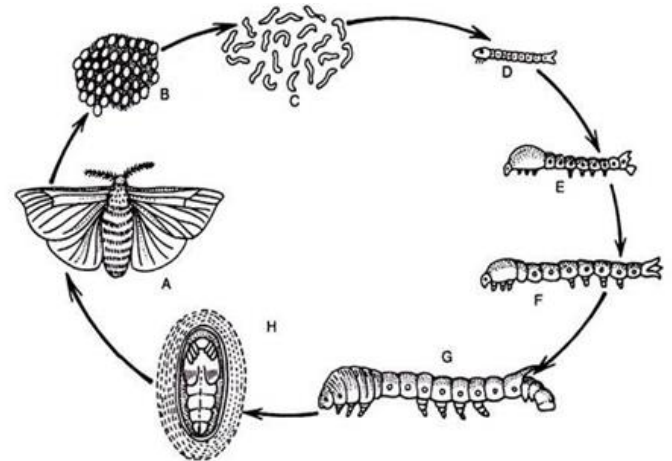
İpek böceği; Asya, Orta Doğu ve Avrupa'da yaklaşık 30 ülkede yetiştirilmektedir. Yaş koza ve ham ipek üretimi ile tüketimi Çin Halk Cumhuriyeti, Japonya, Hindistan, Güney Kore, Rusya ve Kuzey Kore'de yaygındır. İpek kozasından elde edilen liflerin miktarı dünya lif üretimi içerisindeki payı düşük miktarda olmasına rağmen, diğer liflerden pahalı olması nedeniyle, miktar yerine değer karşılaştırılması yapıldığında yüksek bir paya sahip olduğu ortaya çıkmaktadır (Mondal ve ark., 2007). 15. yüzyıl ortalarında Anadolu, "İpek Yolu" olarak adlandırılan ticaret yolu üzerinde çok önemli bir durak olmuş, özellikle Bursa ve çevresi, ipek sanayi ve ticaretinin merkezi konumuna gelmiştir. Türkiye'de koza üretimini korumak ve arttırmak amacıyla 1940 yılında Bursa, Bilecik ve Adapazarı'nda ilk kooperatifler kurulmuştur. Kooperatifler birleşerek 11 Mayıs 1940 tarihinde sınırlı sorumlu (S.S) Bursa Koza Tarım Satış Kooperatifleri Birliği (KOZABİRLİK) ve sonra 1963 yılında Kozabirlik Tohum Üretim İşletmesi kurulmuştur. Bu işletmede Türkiye'de yetiştirilen yerli ırk ipek böceğinin hastalıklara karşı dayanıklı, kutu başına verimliliği yüksek hibrit ipek böceği tohumunun üretilmesi sağlanmıştır. Bu nedenle, dünyada kendi

tohumunu üretebilen birkaç ülkeden biriside Türkiye'dir (Altun, 2007; Albayrak ve ark., 2015).

Son 20 yıl içinde, gerek Bursa'da gerekse ülke çapında ipek böceği yetiştiriciliği azalmaya başlamış olsa da halen Antalya, Bilecik, Eskişehir, Diyarbakır, Ankara gibi pek çok ilde ipek böceği yetiştirilmektedir (Altun, 2007). Günümüzde tekstil alanında eski popülerliğini kaybetmesine rağmen ipek, biyoyumlu yapısı ve güçlü fibril karakteriyle biyoteknoloji alanında yükselen bir değerdir (Atav ve Namırtı, 2011). Medikalden kozmetiğe, iletişimden savunma sanayisine, gıda alanından ilaca pek çok sektörde kullanım imkânı bulunmaktadır. Bu nedenle, tüm dünyada belli başlı araştırma enstitüleri, araştırma alanlarını ipek proteini üzerine yoğunlaştırmıştır.

İpek Böceği'nin Gelişimi

Dut yaprakları üzerindeki yumurtalardan larva halinde çıkan tırtullar yeterince büyüdüklerinde üst dudaklarından iplik halinde zamk gibi bir salgı çıkararak koza yapmaya başlarlar. Tırtıl önce kozanın dış kısmını sonra kendi vücudunun etrafını örmeye devam eder ve görünmez olur. Eğer kendi haline bırakılırsa 2-3 hafta içinde kelebek haline gelerek ördüğü kozayı parçalar ve dışarı çıkar. Bu yüzden kozayı parçalamadan, kozalar sıcak suya atılarak veya sıcak su buharına tutularak tırtılın ölmesi sağlanır ve ipek kozaları elde edilir. Bu kozalardan da ipek lifleri çıkarılıp, ham ipek üretilir (Parlak, 2001). İpek böceğinin gelişim evreleri Şekil 1'de ayrıntılı olarak verilmiştir (İzzetoğlu ve ark., 2009).



Şekil 1. İpek böceğinin (*Bombyx mori*) gelişim evreleri (İzzetoğlu ve ark., 2009)

Nisan-mayıs aylarında, 400-450 civarında yumurta yaklaşık %85 neme ve 24 °C sıcaklığa sahip ortamda bırakılır (B-C). 10-20 gün içerisinde tırtullar yumurtadan

çıkar. Larvalar, 20-25 °C sıcaklıkta tutulurlar. 2-3 gün geçtikten sonra tırtıllar yaklaşık 3 mm uzunluğa ve 5 mg ağırlığa ulaşırlar. Tırtıllar yumurtadan çıktıktan 25-30 gün sonra yaş adı verilen 5 evreden ve uyku adı verilen 4 evreden geçer. 5 yaşın sonunda ağırlıkları yumurtadan çıktığı ilk değere göre 8000-10000 kata kadar artar ve rengi şeffaflaşır (D-G). Vücutlarında birikmiş olan proteini lif olarak kullanarak vücutları etrafında koza adı verilen bir kılıf oluştururlar. Bunu yaptıktan 4-5 gün sonra metamorfoza uğrayıp krizalit (pupa) oluşturur. Bu dönem 14-18 gün sürer (H). Krizalit evresi sona erdikten sonra 15-20 gün sonra krizalit kelebeğe dönüşür (A). Çiftleşmenin hemen sonrasında erkek kelebek ölür ve dişi kelebek ise yumurtalarını bıraktıktan sonra ölür. Bu işlem 1 gün içerisinde gerçekleşir (İzzetoğlu ve ark., 2009).

İpek Lifi

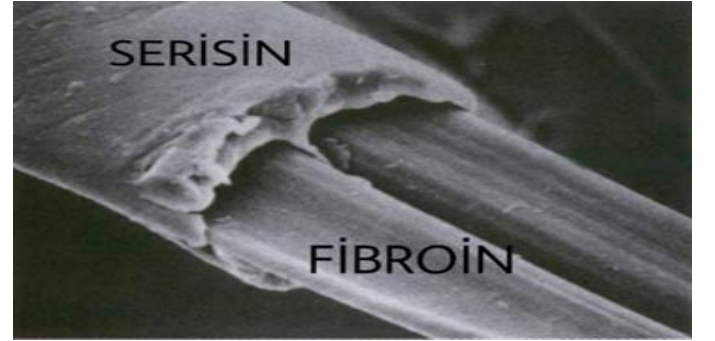
İpek lifi, ipek böceğinin iki ipek salgı bezinden salgılandığı salgının, ağzının alt kısmında yapıştirarak birleştirilmesiyle tek filament olarak çıkan salgı ürünü olup peptit bağları ile bağlanmış aminoasitlerin kompleks yapılarından oluşmuştur (Nadiger ve ark., 1985; Yazıcıoğlu, 1993). Kuru-ham ipeğin yapısında; fibroin (%72-81), serisin (%19-28), yağlı ve mumlu maddeler (%0,5-1,0), inorganik ve boyar maddeler (%1,0-1,4) bulunmaktadır.

Serisin denilen yumurta akına benzer protein, 2 adet fibroin lifinin etrafını sarak protein lifini oluşturmaktadır (Şekil 2). Fibroin proteinin yapısında bulunan aminoasitler; glisin, alanin, serin, tirozin, aspartik asit ve glutamik asit iken, serisini oluşturan aminoasitler; glisin, alanin, serin, treonin, aspartik asit, glutamik asit, arginin ve tirozindir. Dissosiyeye olmuş bir durumda, ipek fibroininde negatif yüklü karboksil iyonları ve pozitif yüklü amonyum iyonları mevcuttur. İzoyonik nokta (pH 5) ya da izoyonik bölgede (pH 4.1-5) her iki grup da aynı miktarda bulunmaktadır. Şişme kabiliyeti ve kimyasal reaktivitesi minimumdur (Nadiger ve ark., 1985).

İpek Proteini

İpek proteini, kolajen, elastin, keratin, sporgin yapıları gibi bir çeşit proteini içeren bir terimdir. (Komatsu, 1975). Dolayısıyla, ipek böceklerinin biyofabrika gibi çalışarak ürettiği ipek, doğal bir polimerdir (Yu-Qing ve ark., 2004). İpek, serisin ve fibroin denilen iki ana bölümden oluşur. Serisin, soğuk suda çözünmeyen, kolay hidrolize olan ve sıcak suda kolayca dağılabilen bir yapıya sahiptir.

%32'sini serinin oluşturduğu 18 farklı aminoasit içerir. Anti-bakteriyel fonksiyonunun yanı sıra oksidasyona dirençli ve UV ışınlarına karşı koruyucu etkilidir. Nemi kolayca bırakır. Serisinin ayrılmasından sonra kalan yapı fibroin'dir. İpek lifini oluşturan fibroin ise yüksek glisin içeriğiyle tekrar eden zincir aminoasitlerin (sekansı; (Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala) iki tekil filamenttir. İnce, uzun, hafif ve yumuşak yapısıyla su emiciliği, boyaya afinitesi, termotoleransı, yalıtım özelliğiyle varlık gösterir. Tablo'da verilen amino asitlerin fibroin'deki oranları ipek böceğinin beslenme ve ortam koşulları ile çeşidine göre değişiklik gösterebilmektedir. Tablo'da görüldüğü gibi ipek fibroin'in %85'i glisin, alanin ve serin'dir. *Bombyx mori* fibroin'inde glisin fazla iken yabancı ipek fibroin'inde alanin fazladır (Nadiger ve ark., 1985).



Şekil 2. İpeği oluşturan temel proteinler; serisin ve fibroin (Yu-Qing ve ark., 2004)

İpek Proteinin Sağlık Alanında Kullanımı

İpek proteininin; kozmetik ürünlerde kırışıklık karşıtı, renk açıcı, nem dengeleyici olarak kullanılmasının yanı sıra medikal alanda yara bakım ürünlerinde yer aldığını ayrıca gıda sektöründe de yenilebilir kaplama olarak pek çok çalışmaya konu olduğu görülmektedir (Bayçın ve ark., 2007; Marelli ve ark., 2016).

Tıp alanında, doku mühendisliğinde, organ yapımında, hücreler için biyobozunur yapı destekleyicisi olarak, kan damarı yapımında, endotel tabaka üretiminde, ameliyatlarda dikiş ipliği olarak, *Antheraea mylitta* takviyesi ile hücre büyümesi sağlanmasında (Karaca ve ark., 2016) kullanılmıştır. Hücre proliferasyonu çalışmaları, hem insan aort endotelleri (HAEC) hem de insan koroner arteri düz kas hücreleri (HCASMC) için ipek fibroin biyomateryal matrisinin kullanımını desteklemiştir. Fibroin yapı destekleyicilerinin vasküler doku mühendisliği için potansiyel matris olduğu kanıtlanmış (Zhang ve ark., 2008) ve kırık doku üretiminde kullanılmıştır (Marolt ve ark., 2006).

Tablo. Fibroin'de bazı madde ve aminoasitlerin bulunma oranları (%)

MADDELER	En az	En çok
Azot	17.35	18.89
Hidrojen	06.44	06.51
Oksijen	26.00	27.90
Karbon	38.00	49.10
AMİNOASİTLER	En az	En çok
Alanin	29.18	29.62
Aspartik asit	01.63	01.74
Arginin	00.47	00.52
Fenilalanin	00.64	00.69
Glisin	43.63	45.50
Glutamik asit	01.19	01.24
Histidin	00.20	00.21
Lizin	00.32	00.41
Lösin	00.70	00.70
İzolösin	00.51	00.63
Metionin	00.08	00.10
Prolin	00.39	00.46
Serin	10.75	11.90
Sistein	t.e.	t.e.
Tirozin	04.85	05.27
Treonin	00.84	00.95
Triptofan	00.03	00.03
Valin	02.03	02.21

Veriler, Çin, Brezilya ve Güney Kore ham ipeklerinin analizi ile elde edilmiştir. *t.e:* miktar tespit edilmedi (Yazıcıoğlu, 1993).

Doku mühendisliğinde yapı destekleyicilerinin, 28 güne kadar olan kondrosit proliferasyonunu desteklediği ve insan eklem kondrositleriyle mezenkimal kök hücreleri (MSC) kültürlemek için kullanıldığında kondrogenesi desteklediği gözlenmiştir (Meinel ve ark., 2004). İnce fibroin filmler üzerinde *in vitro* yetiştirilen kök hücreler de osteogenezisi sağlamaktadır (Wang ve ark., 2005). Fibroin ve serisin filmlerin, L-929 fibroblast hücre hattının bağlanmasını, yayılmasını ve büyümesini desteklediği rapor edilmiştir (Minoura ve ark., 1995).

Eczacılıkta ipek proteinleri; özellikle kemoterapi ilaçlarında, deri yoluyla ilaç salınımında kullanılırken, gıda endüstrisinde ise fonksiyonel gıda takviyesi olarak sektörde yerini almıştır (Bayçın ve ark., 2007). Serisinden arındırılmış fibroin, biyoyumlu, biyobozunur özellikleri sayesinde hücre kültürü, yara örtüsü, ilaç salınımı, enzim immobilizasyonu ve kemik hücre mühendisliğinde de iskelet olarak kullanıldığı görülmektedir. Aynı zamanda farmakoloji ve farmasötik teknolojide kullanılan fibroin, farklı formlarda (film, jel, toz, köpük, fiber vb.) ve farklı özelliklerde (çözünürlük, geçirgenlik, dayanıklılık, esneklik vb.) hazırlanabilmektedir.

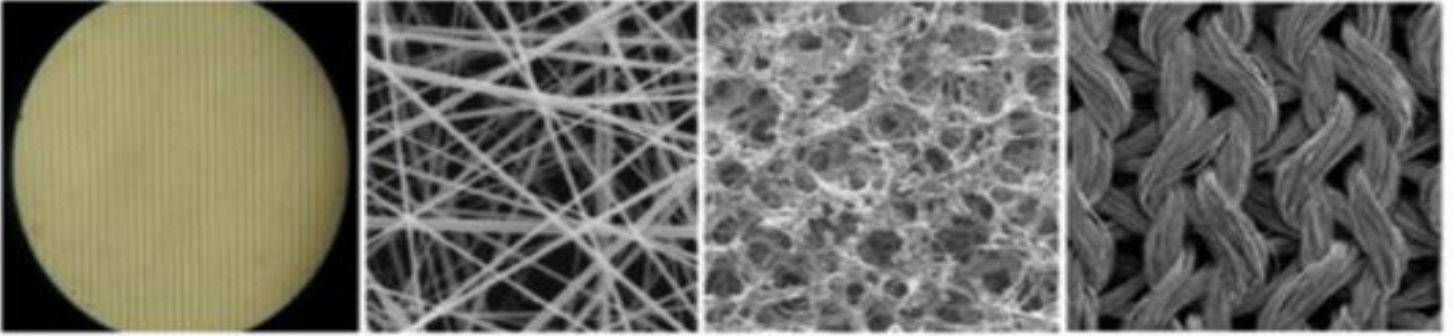
İpek proteinin bellek iyileştirme, damar yenilenmesi, eklem hastalıkları ve kanser tedavisinde kullanımı oldukça önemlidir. Sağlık alanındaki bu kullanımlardan kısaca bahsetmekte yarar vardır.

Bellek İyileştirme

Tarihsel olarak ipek ve ipek proteini hidrolizatları; gıda olarak ve geleneksel Asya tıbbında doku hasarlarına karşı koruyucu özelliğinin yanı sıra anti-kanser, bağışıklık sistemini güçlendirici özellikleri ile de kullanılmaktadır (Kato ve ark., 2000; Yang ve ark., 2009). Son yıllarda, günlük 200-400 mg dozlarda kullanılan, özel olarak hazırlanmış, tescilli, ipek fibroin proteini enzimatik hidrolizatının (FPEH) normal, sağlıklı insanlarda bilişsel işlevi önemli ölçüde geliştirdiği bulunmuştur (Lee ve ark., 2004; Kim ve ark., 2010). Ayrıca hafızanın sözel ve şekil hatırlama becerileri test edilmiştir. Sonuçlar, 400 mg ve 600 mg FPEH tedavi grubu deneklerinin, plasebo grubu deneklerden anlamlı ölçüde daha fazla kelime hatırladıkları ve 3 haftalık takviyeden sonra sözcükleri hafızada muhafaza edebildiklerini göstermiştir. Bellek bölümünde olumlu gelişmeler saptanmış; zaman içinde hatırlanan kelimelerin sayısında doza bağımlı artışlar ve karmaşık bir rakamı hatırlama/çizme yeteneği temelinde kısa süreli hafıza artışları görülmüştür. Sonuç olarak FPEH'in bellek üzerindeki maksimum faydalı etkisinin, 400-600 mg aralığında bir dozla sağlanabileceği görülmüş, olumlu ve ümit verici sonuçlar kaydedilmiştir. Buna karşın etki mekanizmaları, bellek ve öğrenme süreçleriyle ilişkili biyokimyasal belirteçlerin tespitiyle ilgili ek çalışmalara ihtiyaç duyulduğu açıklandı (Kang ve ark., 2018).

Damar Yenilenmesi

Kardiyovasküler hastalıklar günümüz dünyasında morbidite ve mortalitenin temel nedenidir. Sağlıklı otolog damarların olmaması nedeniyle, hasarlı arterleri onarmak veya değiştirmek için daha fazla doku mühendisliği ile yapılmış kan damarı gerekmektedir. Biyomateryaller (Şekil 3), biyolojik cevapları olan canlı ve yeni kan damarlarının yaratılmasında vazgeçilmez bir rol oynamaktadır. İpek böcekleri tarafından üretilen ipek fibroin, iyi hücre sel uyumluluk, ayarlanabilen biyobozunurluk, uygun mekanik özellikler ve minimal enflamatuvar reaksiyon özellikleri nedeniyle vasküler doku mühendisliğinde kullanılmıştır (Wang ve ark., 2017).



Şekil 3. İpek fibroinin film yapısı, elektroskopi ile lif yapısı, sünger yapısı ve düğümlü yapı iskelesi/yapı destekleyicisi (soldan sağa) (Wang ve ark., 2017)

Eklemler Hastalıkları

Osteoartrit (OA) halk arasında kireçlenme olarak bilinen, 50 yaş üzerindeki kişilerde sık görülen, en çok eller, kalça, diz ve omurgaları etkileyen dejeneratif bir eklem hastalığıdır. Kemikteki büyümeler ve eklem kenarındaki çıkıntılar, hareketlerde kısıtlanmaya ve ağrıya neden olmaktadır. Osteoartritte en yaygın tedavi yaklaşımı; ağrının steroid olmayan antiinflamatuar (NSAID) ilaçların oral uygulanması ile semptomatik olarak tedavi edilmesidir. NSAID tedavisi faydalı olmadığında ise kortikosteroid veya hyaluronun intraartiküler enjeksiyonu reçete edilebilmektedir (Zhang ve ark., 2008). Metotreksat ve diklofenak gibi küçük moleküllü etken maddeler de artrit tedavisi için terapötik potansiyele sahiptir. Fakat bu ilaçların eklem içi enjeksiyon sonrası yarı ömürleri 1-2 saat gibi kısa sürede gerçekleşmektedir. İlaçların eklem boşluğunda kalma süresini arttırmak için ilacın yavaş ve sürekli salınımı mümkün kılan stratejiler geliştirilmiştir (Kang ve Im, 2014). Bu stratejiler arasında, polimerler ve lipidler gibi sentetik materyallerin yanı sıra; kitosan, aljinat, albumin proteini ve elastin benzeri polipeptitler gibi doğal materyaller de ilacın kaplanması kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca eklem boşluğuna ulaşımı takiben deksametazon salınması için lipozomlar geliştirilmiştir (Meinel ve Kaplan, 2012). Ancak bugüne kadar insanlarda intraartiküler uygulama için hiçbir polimerik ilaç verme sistemi onaylanmamıştır. İpek fibroinin mikropartikülleri emülsiyon haline getirilerek ilaçların emilim ve salınımı yapılmıştır (Wang ve ark., 2010). Yapılan bir başka çalışmada bu mikropartiküller sıçanların diz eklemlerine enjekte edilmiştir. İpek fibroin mikropartiküllerinin *in vitro* salım kinetiği ve *in vivo* floresans görüntülemeyle intraartiküler alıkonma zamanı ölçülmüştür (Whitmire ve ark., 2012). Yine bir dizi ilacın potansiyel salım profillerini belirlemek ve serbest salım kinetiklerini *in vivo* olarak tespit etmek için model bir

bileşiğin (Cy7) salınımı incelenmiştir. Bunun sonucunda ipek fibroin mikropartiküllerinin içerisine yüklenen küçük molekül ilaçların, lokalize bir şekilde sürekli salınımını sağlayabileceği saptanmıştır. Böylece OA tedavisi için küçük moleküllü ilaçların intraartiküler yoldan verilmesi ile ilgili eksikliklerin/problemlerin üstesinden gelmek için kullanılabilirliği düşünülmüştür. Gelişmekte olan kıkırdak doku mühendisliği için elverişli yapı destekleyicisi talebi artmış olup, kondroidin sülfat (CS) ve ipek fibroinin doku mühendisliği iskeleleri olarak güvenliği ve biyouyumluluğu araştırılmıştır (Zhou ve ark., 2017). İpek fibroin olağanüstü mekanik özellikleri, uzun süreli *in vivo* stabilite ve hipoinmünitesi nedeniyle yapısal mekanik bileşen olarak iyi bir adaydır. İpek fibroin ve CS kombinasyonunun eklem kıkırdağı onarımını sinerjistik olarak destekleyebileceği, insan eklem kondrositleri ile hücre yapışması, proliferasyonu ve migrasyonu ile *in vitro* olarak araştırılmıştır. Sonuçta ipek fibroin-CS yapı desteğinin, tek başına kullanılmasına göre daha iyi kondrosit fenotipini koruduğu, kondrosit inflamatuar yanıtını azalttığı gösterilmiştir. Bu nedenle ipek geniş çapta benimsenmiş, ipek fibroin-CS kombinasyonu tasarlanmış ve hayvan modelinde eklem kıkırdağı defektinin onarımını desteklediği kanıtlanmıştır.

Osteogenez Tedavisi

Daha yavaş degradasyon oranı nedeniyle ipek fibroinin, çeşitli terapötik uygulamalarda, özellikle de kemik rejenerasyonunda biyoaktif ilaç verme için bir taşıyıcı olarak üstün özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Uebersax ve ark., 2008). İpek fibroin, osteogenez teşvik etmede önemli bir rol oynadığı bilinen biyoaktif moleküllerin (özellikle BMP-2) dağıtım potansiyelini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. BMP-2'nin ipek fibroin kullanılarak verilmesi, kemik rejenerasyonu için kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir

(Wang ve ark., 2014). BMP-2 yüklü ipek fibroin parçacıkları, BMP-2'nin aktarıma hızı ile birlikte kemik yoğunluğunda artışa sahip sıçanlarda ektopik kemik formasyonunun oluşumunu başarılı bir şekilde başlatmış ve tek başına BMP-2'ye göre üstün kemik oluşumu göstermiştir. BMP-2'nin yanı sıra anjiyogenik büyüme faktörü (VEGF) ve bunun kontrollü bir şekilde uygulanması, kemik rejenerasyonunda hayati bir rol oynamaktadır. VEGF'nin sürekli olarak verilmesinin kemik rejenerasyonuna yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Kanczler ve ark., 2010).

Kanser Tedavisi

İpek böceği proteininin farklı çalışmalarda anti-kanser aktivitesi gösterdiği tespit edilmiş olup, Wang ve ark. (2018), akciğer kanseri üzerinde yaptıkları bir çalışmada ipek fibroin peptidinin (İFP) *in vitro* ve *in vivo* olarak olası anti-kanser mekanizmalarında akciğer kanser hücrelerine karşı etkileri incelenmiştir. Akciğer kanseri H460 xenograft farelerinde 40 gün boyunca intraperitoneal yoldan İFP (200 veya 500 mg/kg/d) enjeksiyonunun tümör büyümesini önemli ölçüde bastıracağı tespit edilmiştir. İFP'nin hücre döngüsü ve apoptoz üzerindeki etkileri akış sitometrisi kullanılarak H460 hücrelerinde incelenmiş ve hücre döngüsünü S fazında durdurduğu ve apoptozisi desteklediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre kanser tedavisinde yeni terapötik ajan olarak daha fazla çalışılması gerektiği görüş birliğine varılmıştır (Wang ve ark., 2018).

Zerdeçal (*Curcuma longa*), antiinflamatuvar, antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinden dolayı yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bitkinin etken maddesi olan kurkuminin suda düşük çözünürlüğü, yavaş çözünme oranı ve hızlı barsak metabolizması nedeniyle tedaviler sırasında biyoyararlanımı zayıftır. Montalbán ve ark. (2018), nano taşıyıcılarla kurkuminin terapötik etkinliğinin geliştirilmesi, küçük boyutlarına ve geniş yüzey alanlarına bağlı olarak hücre içine geçişin teşvik edilmesini amaçlamışlar, iyonik sıvılar kullanarak ipek fibroin nanopartikülleri sentezlemişler ve bunlara kurkumin yüklemişlerdir. Tümör hücreleri üzerinde kurkumin yüklü ipek fibroin nanopartiküllerinin sitotoksik etki gösterirken, sağlıklı hücrelere etki göstermedikleri tespit edilmiştir. Bu sonuca göre lokal, uzun süreli ilaç verme yoluyla tümörleri tedavi etme potansiyeli olan biyobozunur, biyoyumlu ilaç taşıyıcı sistemlerinin oluşturulabileceği bildirilmiştir.

İlaç Hedeflendirme, Nanobiyomateryaller, İlaç Salım Sistemleri

Hastalığın tedavisi yapılırken, sağlıklı dokularda en az toksisite gösteren, uzun süreli salınımı olan terapötik formülasyonlar tercih edilmektedir. Biyolojik olarak türetilen taşıyıcı sistemler, olumsuz etkileri en aza indirmeyi ve tedavilerin etkinliğini arttırmayı amaçlamaktadır. Serisinden uzaklaştırılmış ipek fibroin, polisakkaritlere olan güçlü yakınlığı, sahip olduğu mekanik ve dinamik özellikleri sayesinde, kontrollü ve sürekli ilaç dağıtımı için eşsiz bir aday haline gelmektedir. Hedefleme, hastalıklı hücreler için kullanılan terapötüğün özgülüğü ile ilişkiliyken; ipek fibroinden türetilmiş partiküller, terapötik maddenin daha uzun süre etki için hücre içi alımı ve tutulmasını arttırmaktadır (Yeo ve ark., 2003). Nanopartikül için hedefleme mekanizması ipek fibroin bileşiminin β -tabakalarının kıvrılması ve β -sarmalı halinde kendi kendine bir araya gelmesine dayanmaktadır. Hastalıklı bölgeye terapötik uygulamanın etkinliği, maddenin etkisi, veriliş yolu ve hastalığın bulunduğu bölgedeki gücüne de bağlıdır (Mathur ve Gupta, 2010). Tümör hücreleri için verilen ilacın özgülüğünün olmaması ve ilacın yüksek dozunun uygulanması, toksisite oluşumuna da neden olabilmektedir. Bu nedenle çalışmalar kontrollü salım elde etmek için mikropartikül ve nanopartiküllerin kullanımıyla spesifik doku (tümör) bölgelerine ilaç hedeflemenin sağlanmasına yönelik mekanizmalara odaklanmıştır (Gobin ve ark., 2006). İpek bazlı biyomateryaller; çeşitli moleküller için sürdürülebilir ilaç taşıyıcıları olarak kullanılmıştır (Huang ve ark., 2018). Nanoküreler, küçük kılcal damarlardan fizyolojik bariyerler boyunca nüfuz edebileceği için kanser dahil çeşitli hastalıkların tedavisi için araştırılmıştır. Yapılan klinik ön çalışma sonuçlarına göre nanoterapötiklerin, serbest kemoterapötiklerle kıyaslandığında daha az yan etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Bunun sebebinin ise nanoterapötiklerin tümörlerde hedeflenen lokalizasyon ve aktif hücresel alım gibi özelliklerinin olduğu gösterilmiştir (Huang ve ark., 2015). Mikrokürecikler, uzun etkili iletim için depo ilaç taşıyıcıları olarak kullanılır ve genellikle kas içinden veya deri altından uygulanabilirler. Kanser tedavisi için de genellikle çapı 10 ila 150 nm arasında nanoterapötikler kullanılmaktadır. İpek fibroin bazlı taşıyıcılar, silikon veya polietilen glikolden sentezlenen nanopartiküller, polilaktik asit ve analoglarından imal edilen sentetik bozunabilir parçacıklar tarafından biyolojik olarak türetilmiştir (Kundu ve ark., 2010). Belirlenen engellerin

aşılması amacıyla mikroküreler, nano tabakalar yanında ilaç yüklü lipozomlar PLGA (poli-laktik asit ko-glikolik asit) partiküllerinin mikro kaplanması gibi yapılarla kontrollü salım sistemleri üzerinde çalışılmıştır (Yan ve ark., 2009).

Enzim İmmobilizasyonu

Akut lenfoblastik lösemisinin (ALL) tedavisinde L-asparaginaz enzimi kullanılmaktadır. Bu enzim, yüksek terapötik etkinlik göstermesine rağmen ateş, deri döküntüsü, alerjik reaksiyonlar ve hatta anafilaktik şok gibi ciddi yan etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Miyairi ve Sugiura, 1978). Yu-Qing ve ark. (2004) tarafından yapılmış çalışmada enzim immobilizasyonuna karşı ipek proteinleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda özellikle serisin aminoasitleri glutaraldehit ile çapraz bağlanarak %62,5'luk bir tutulum sağlandığı bildirilmiştir.

Sonuç

Bu derlemede, ipek fibroinin eldesi ve sağlık alanında kullanımı ele alınmıştır. Fibroin ipeğin yapısını oluşturan fibril yapıdaki proteindir ve saf ipeğin %70'ini oluşturmaktadır. İpekten elde edilen biyouyumlu ve biyoçözünür fibroin proteinin farklı formlarda malzemeler (toz, film, köpük, fiber, jel vb.) olarak hazırlanması ve bu malzemelerin biyoteknoloji ve biyomedikal alanlardaki kullanımı üzerine odaklanılmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalarda, ipek fibroinin çeşitli hastalıklarda iyileşmeyi hızlandırdığı, tedaviye yardımcı olduğu ve hatta hedefli ilaç olarak kullanımının mümkün olduğu görülmüştür. İpek fibroinin sağlık alanında kullanımı konusunda özellikle ilaç dağıtıcı sistemlerin geliştirilmesinde hayvan deneyi çalışmalarından başarılı sonuçlar alınmış olmasına rağmen, insan deneyi çalışmaları yeterli düzeyde yapılmamıştır. Çeşitli hastalıkların tedavisi için ilaç verme sistemlerinin insanlar tarafından kullanılabilmesi için gerekli çalışmalar, geniş bir birey yelpazesinde, farklı ülkelerden farklı etnik gruplarla yapılmalıdır. Umut vadeden bu doğal ürünün bazı hastalıkların tedavisinde insanlığa önemli katkılar sunması muhtemeldir.

Etik Onay

Bu derleme çalışma için etik onaya ihtiyaç bulunmamaktadır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildiriminde bulunulmamıştır.

Destek

Bu çalışma için herhangi bir kişi ve/veya kurumdan destek alınmamıştır.

Kaynaklar

- Altun, D. (2007). XIX. Yüzyılda Bursa'da ipek böcekçiliği. *Balıkesir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Tarih Kulübü Bülteni*, 1, 102-108.
- Atav, R. (2011). İpek liflerinin dünü ve bugünü. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 1(3), 112-119.
- Bayçın, D., Altıok, E., Ülkü, S., & Bayraktar, O. (2007). Adsorption of olive leaf (*Olea europaea* L.) antioxidants on silk fibroin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1227-1236.
- Coşkun, G., Karaca, E., Hockenberger, A., & Ömeroğlu, S. (2016). İpek Ameliyat İplikleri ve Türkiye'de Üretim Olanakları. *Tekstil ve Mühendis*, 23(102), 140-152.
- Gobin, A. S., Rhea, R., Newman, R. A., & Mathur, A. B. (2006). Silk-fibroin-coated liposomes for long-term and targeted drug delivery. *International Journal of Nanomedicine*, 1(1), 81-87.
- Huang, W., Rollett, A., & Kaplan, D. L. (2015). Silk-elastin-like protein biomaterials for the controlled delivery of therapeutics. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 12(5), 779-791.
- Huang, W., Ling, S., Li, C., Omenetto, F. G., & Kaplan, D. L. (2018). Silkworm silk-based materials and devices generated using bio-nanotechnology. *Chemical Society Reviews*, 47(17), 6486-6504.
- İzzetoğlu, T. (2009). İpekböceği (*Bombycidae: Bombyx mori*)'nde juvenil ve ekdizon hormonları uygulaması sonucu olası değişimler. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(4), 525-530.
- Kanczler, J. M., Ginty, P. J., White, L., Clarke, N. M., Howdle, S. M., Shakesheff, K. M., & Oreffo, R. O. (2010). The effect of the delivery of vascular endothelial growth factor and bone morphogenic protein-2 to osteoprogenitor cell populations on bone formation. *Biomaterials*, 31(6), 1242-1250.
- Kang, M. L., & Im, G. I. (2014). Drug delivery systems for intra-articular treatment of osteoarthritis. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 11(2), 269-282.
- Kang, Y. K., Lee, B. Y., Bucci, L. R., & Stohs, S. J. (2018). Effect of a fibroin enzymatic hydrolysate on memory improvement: A placebo-controlled, double-blind study. *Nutrients*, 10(2), 233.

- Kato, M., Isobe, K. I., Dai, Y., Liu, W., Takahashi, M., & Nakashima, I. (2000). Further characterization of the Sho-saio-to-mediated anti-tumor effect on melanoma developed in RET-transgenic mice. *The Journal of Investigative Dermatology*, 114(3), 599-601.
- Kim, D. H., Kim, O. H., Yeo, J. H., Lee, K. G., Park, G. D., Kim, D. J., ... & Hyun, J. S. (2010). The improvement of short-and long-term memory of young children by BF-7. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 39(3), 376-382.
- Komatsu, K. (1975). Studies on dissolution behaviors and structural characteristics of silk sericin. *Sericultural Experiment Station*, 26, 135-256.
- Kundu, J., Chung, Y. I., Kim, Y. H., Tae, G., & Kundu, S. C. (2010). Silk fibroin nanoparticles for cellular uptake and control release. *International Journal of Pharmaceutics*, 388(1-2), 242-250.
- Lee, M. Y., Lee, S. H., Lee, J. S., Min, K. J., Lee, K. G., Yeo, J. H., ... & Lee, W. B. (2004). BF-7 improved memory function and protected neuron from oxidative stress. *Korean Journal of Physical Anthropology*, 17, 313-320.
- Marelli, B., Brenckle, M. A., Kaplan, D. L., & Omenetto, F.G. (2016). Silk Fibroin as Edible Coating for Perishable Food Preservation. *Scientific Reports*, 6, 25263. <https://doi.org/10.1038/srep25263>
- Marolt, D., Augst, A., Freed, L. E., Vepari, C., Fajardo, R., Patel, N., ... & Vunjak-Novakovic, G. (2006). Bone and cartilage tissue constructs grown using human bone marrow stromal cells, silk scaffolds and rotating bioreactors. *Biomaterials*, 27(36), 6138-6149.
- Mathur, A. B., & Gupta, V. (2010). Silk fibroin-derived nanoparticles for biomedical applications. *Nanomedicine*, 5(5), 807-820.
- Meinel, L., Hofmann, S., Karageorgiou, V., Zichner, L., Langer, R., Kaplan, D., & Vunjak-Novakovic, G. (2004). Engineering cartilage-like tissue using human mesenchymal stem cells and silk protein scaffolds. *Biotechnology and Bioengineering*, 88(3), 379-391.
- Meinel, L., & Kaplan, D. L. (2012). Silk constructs for delivery of musculoskeletal therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(12), 1111-1122.
- Minoura, N., Aiba, S. I., Gotoh, Y., Tsukada, M., & Imai, Y. (1995). Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk protein matrices. *Journal of Biomedical Materials Research*, 29(10), 1215-1221.
- Miyairi, S., & Sugiura, M. (1978). Properties of β -glucosidase immobilized in sericin membrane. *Journal of Fermentation Technology*, 56(4), 303-308.
- Mondal, M., Trivedy, K., & Nirmal, K. S. (2007). The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn.,-a review. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 5(2), 63-76.
- Montalbán, M. G., Coburn, J. M., Lozano-Pérez, A. A., Cenis, J. L., VÍllora, G., & Kaplan, D. L. (2018). Production of curcumin-loaded silk fibroin nanoparticles for cancer therapy. *Nanomaterials*, 8(2), 126.
- Nadiger, G. S., Bhat, N. V., & Padhye, M. R. (1985). Investigation of amino acid composition in the crystalline region of silk fibroin. *Journal of Applied Polymer Science*, 30(1), 221-225.
- Parlak, O. (2001). İpekböceği Biyolojisi (Yardımcı Ders Kitabı). *Ege Üniversitesi Basımevi, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları*, 171.
- Sun, W., Gregory, D. A., Tomeh, M. A., & Zhao, X. (2021). Silk fibroin as a functional biomaterial for tissue engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1499.
- Taşkaya Top, B., Özüdoğru, T., Özer, O. O., Bars, T., Polat, K., Yasan Ataseven, Z., & Albayrak, M. (2015). Türkiye’de ipekböcekçiliği yapan işletmelerin sosyo-ekonomik yapısının belirlenmesi. *Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Yayınları*, 263.
- Uebersax, L., Merkle, H. P., & Meinel, L. (2008). Insulin-like growth factor I releasing silk fibroin scaffolds induce chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Journal of Controlled Release*, 127(1), 12-21.
- Wang, X., Kim, H. J., Xu, P., Matsumoto, A., & Kaplan, D. L. (2005). Biomaterial coatings by stepwise deposition of silk fibroin. *Langmuir*, 21(24), 11335-11341.
- Wang, D., Liu, H., & Fan, Y. (2017). Silk fibroin for vascular regeneration. *Microscopy Research and Technique*, 80(3), 280-290.
- Wang, M. S., Du, Y. B., Huang, H. M., Zhu, Z. L., Du, S. S., Chen, S. Y., ... & Yan, Z. (2019). Silk fibroin peptide suppresses proliferation and induces apoptosis and cell cycle arrest in human lung cancer cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, 40(4), 522-529.
- Wang, R. N., Green, J., Wang, Z., Deng, Y., Qiao, M., Peabody, M., ... & Shi, L. L. (2014). Bone morphogenetic protein (BMP) signaling in development and human diseases. *Genes & Diseases*, 1(1), 87-105.
- Wang, X., Yucel, T., Lu, Q., Hu, X., & Kaplan, D. L. (2010). Silk nanospheres and microspheres from silk/pva blend films for drug delivery. *Biomaterials*, 31(6), 1025-1035.
- Whitmire, R. E., Wilson, D. S., Singh, A., Levenston, M. E., Murthy, N., & Garcia, A. J. (2012). Self-assembling nanoparticles for intra-articular delivery of anti-inflammatory proteins. *Biomaterials*, 33(30), 7665-7675.
- Yan, H. B., Zhang, Y. Q., Ma, Y. L., & Zhou, L. X. (2009). Biosynthesis of insulin-silk fibroin nanoparticles conjugates and *in vitro* evaluation of a drug delivery system. *Journal of Nanoparticle Research*, 11(8), 1937-1946.
- Yang, Y., Tang, L., Tong, L., & Liu, H. (2009). Silkworms culture as a source of protein for humans in space. *Advances in Space Research*, 43(8), 1236-1242.

- Yazıcıoğlu, G. (1993). İpek (*Bombyx mori*) Fibroininin kimyasal ve kristalin yapısı. *Tekstil ve Mühendis*, 7(38).
- Yeo, J. -H., Lee, K. -G., Lee, Y. -W. & Kim, S. Y. (2003). Simple preparation and characteristics of silk fibroin microsphere. *European Polymer Journal*, 39(6), 1195-1199.
- Yu-Qing, Z., Mei-Lin, T., Wei-De, S., Yu-Zhen, Z., Yue, D., Yan, M. & Wen-Lin, Z. (2004). Immobilization of L-asparaginase on the microparticles of the natural silk sericin protein and its characters, *Biomaterials*, 25, 3751-3759.
- Zhang, W., Moskowitz, R. W., Nuki, G., Abramson, S., Altman, R. D., Arden, N., Bierma-Zeinstra, S., Brandt, K. D., Croft, P., Doherty, M., Dougados, M., Hochberg, M., Hunter, D. J., Kwok, K., Lohmander, L. S. , ... & Tugwell, P. (2008). OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines, *Osteoarthritis Cartilage*, 16, 137-162.
- Zhou, F., Zhang, X., Cai, D., Li, J., Mu, Q., Zhang, W., ... & Ouyang, H. W. (2017). Silk fibroin-chondroitin sulfate scaffold with immuno-inhibition property for articular cartilage repair. *Acta Biomaterialia*, 63, 64-75.