

Estabilidade Térmica da seda de aranhas da espécie *Trichonephila Clavipes*

Guilherme Dias Aranha, Cristina Pacheco Soares.

Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, gdaranha1@gmail.com, cpsoares@univap.br.

Resumo

Os fios de seda das aranhas são um material utilizado ao longo da história humana, desde os gregos antigos até os tempos modernos, devido às suas propriedades únicas. Esse material foi explorado de diversas formas, principalmente em ferimentos, para estancar sangramentos ou auxiliar na regeneração de feridas. Atualmente o material vem sendo estudado mais aprofundadamente, testando suas propriedades para a aplicação na área médica com ênfase em sua biocompatibilidade. O estudo presente buscou analisar a estabilidade dos fios de seda de aranhas da espécie *Trichonephila clavipes* em condições de esterilização, ou seja, ao ser autoclavada na temperatura de 121 °C através da observação de suas estruturas utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura. Segundo os resultados obtidos, a seda e suas estruturas apresentam-se inalteradas após o processo de esterilização, assim mostrando que não houve alterações visíveis que apresentem uma deterioração de suas propriedades originais. Estas observações tornam possível a utilização deste material em ambientes estéreis, permitindo sua manipulação sem causar contaminações.

Palavras-chave: Biomateriais. Seda de Aranha. *Trichonephila Clavipes*. Engenharia Biomédica.

Área do Conhecimento: Engenharia Biomédica

Introdução

Há séculos a seda produzida pelas aranhas vem sendo extensamente aplicada para o tratamento de doenças e ferimentos, tendo relatos de sua utilização pelos Gregos e Romanos antigos que a utilizavam para tratar diversos males, desde sua colocação em feridas abertas para acelerar a regeneração, remoção de verrugas envolvendo-as com seda e ateando fogo, tratamento de dentes cariados inserindo casulos, até mesmo para tratar dermatofitose e lepra (Newman e Newman, 1995). O material começou a ser estudado formalmente, com estudos publicados, por volta de 1710, onde suas qualidades biomédicas de parar sangramentos e curar feridas, além de suas características físicas em relação à resistência já eram reconhecidas (Bon, 1710). Na França, a seda de aranha ganhou notoriedade como um hemostático, já que durante a batalha de Crécy em 1356 as tropas francesas carregavam pacotes de teia para serem utilizados em caso de hemorragia, além disso, durante o século 18, a teia de aranha foi utilizada na área de oncologia cutânea para manter o medicamento afixado ao câncer (Newman e Newman, 1995).

Na área médica, estudos vêm sendo feitos para utilizar os fios da seda da aranha como fios de sutura. Foi observado que, ao trançar os fios de diferentes formas, é possível obter diferentes curvas de estresse quando aplicado tração, que ao comparar com fios de sutura atualmente utilizados, apresenta maior capacidade de resistir a esforço contínuo, sendo então uma ótima alternativa para suturar tendões, que estão constantemente sob tensão (Hennecke *et al.*, 2013). Esses fios de seda apresentam a capacidade de estimular a regeneração celular, fenômeno observado ao utilizar o material como enxerto artificial reconectando nervos periféricos com lesões extensas. Após certo período, houve sinais de reparação nervosa, com axônios regenerados e bem mielinizados por células de Schwann endógenas, o que indica uma regeneração nervosa similar a um transplante de nervo autólogo (Radtko *et al.*, 2011).

Estudos realizados para observar a resistência à tensão dos fios sob influência da temperatura foram realizados na seda de aranhas da espécie *Trichonephila Clavipes*. Os resultados indicam uma preservação do módulo de Young em temperaturas de até 170 °C, onde após isso é observado um aumento desse módulo. Outra observação é a perda de sua estabilidade ao atingir temperaturas acima

de 230 °C, onde é observada uma rápida perda de peso ao adicionar mais calor à amostra (Cunniff *et al.*, 1994).

Metodologia

O estudo foi conduzido utilizando seda de aranhas *Trichonephila clavipes*, obtida em duas condições distintas, caracterizadas por diferentes colorações, denominadas seda amarela e seda branca. A seda amarela foi coletada diretamente das teias naturais dos espécimes em seu habitat, enquanto a seda branca foi obtida a partir de teias construídas em condições controladas em viveiros de laboratório.

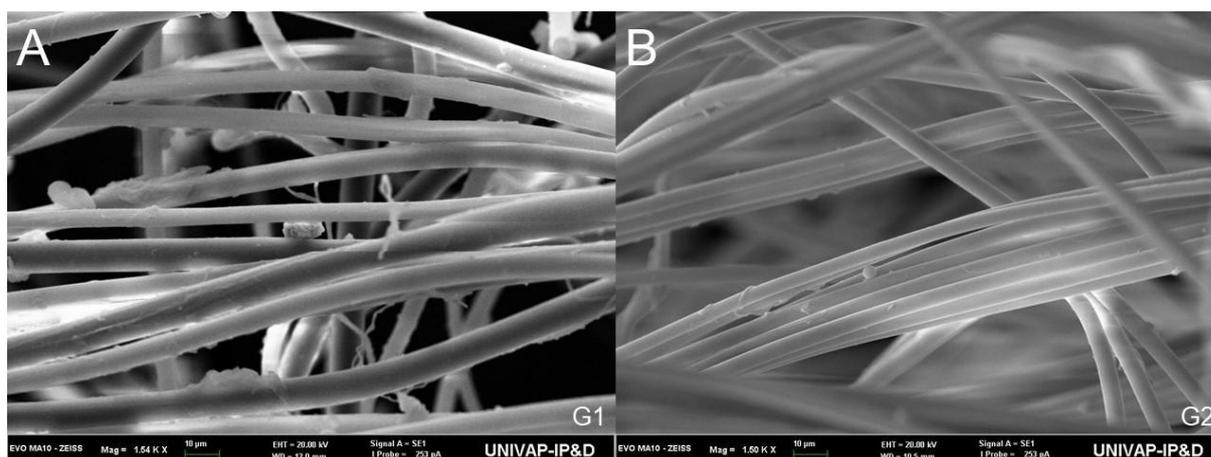
Após a coleta, as amostras foram submetidas a um processo de esterilização em autoclave, acondicionadas individualmente em tubos de 15 ml. O procedimento de autoclavagem seguiu protocolo padrão, com temperatura de 121 °C e pressão de 1 atmosfera por um período de 15 minutos. A seguir, as amostras foram classificadas em quatro grupos: G1 seda amarela não autoclavada, G2 seda amarela autoclavada, G3 seda branca não autoclavada e G4 seda branca autoclavada.

As amostras foram preparadas para análise em microscópio eletrônico de varredura Zeiss – EVO MA 10 (MEV), sendo fixadas em *stubs* individuais com fita de carbono e posteriormente metalizadas. Foram obtidas, no mínimo, quatro imagens de cada grupo, visando a comparação da integridade estrutural entre as diferentes condições experimentais.

Resultados

Analisando as imagens das quatro amostras de seda, foram observadas diversas estruturas em comum. Primeiramente, comparando as amostras do grupo G1 e do grupo G2, não foram observadas diferenças na organização e aparência de suas estruturas. A Figura 1A contém a imagem obtida dos fios da teia amarela não autoclavados e a Figura 1B contém a imagem obtida dos fios da teia amarela autoclavada.

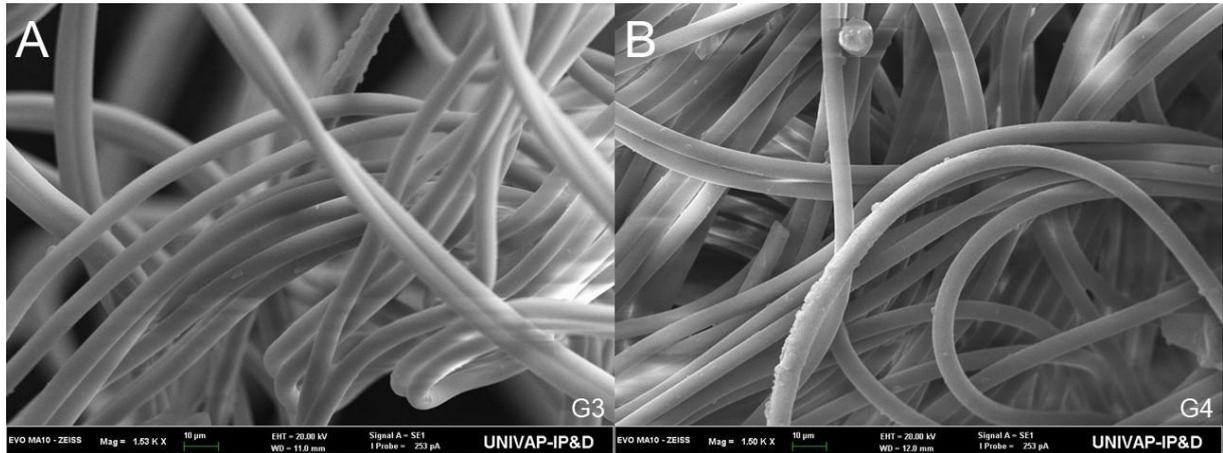
Figura 1: Morfologia das sedas amarelas, G1 não autoclavada e G2 autoclavada



Fonte: o autor.

Ao analisar as estruturas das amostras de seda branca, também não foram encontradas diferenças estruturais entre elas. A Figura 2A mostra uma imagem obtida da amostra de seda branca não autoclavada e a Figura 2B mostra a imagem obtida da amostra de seda branca autoclavada.

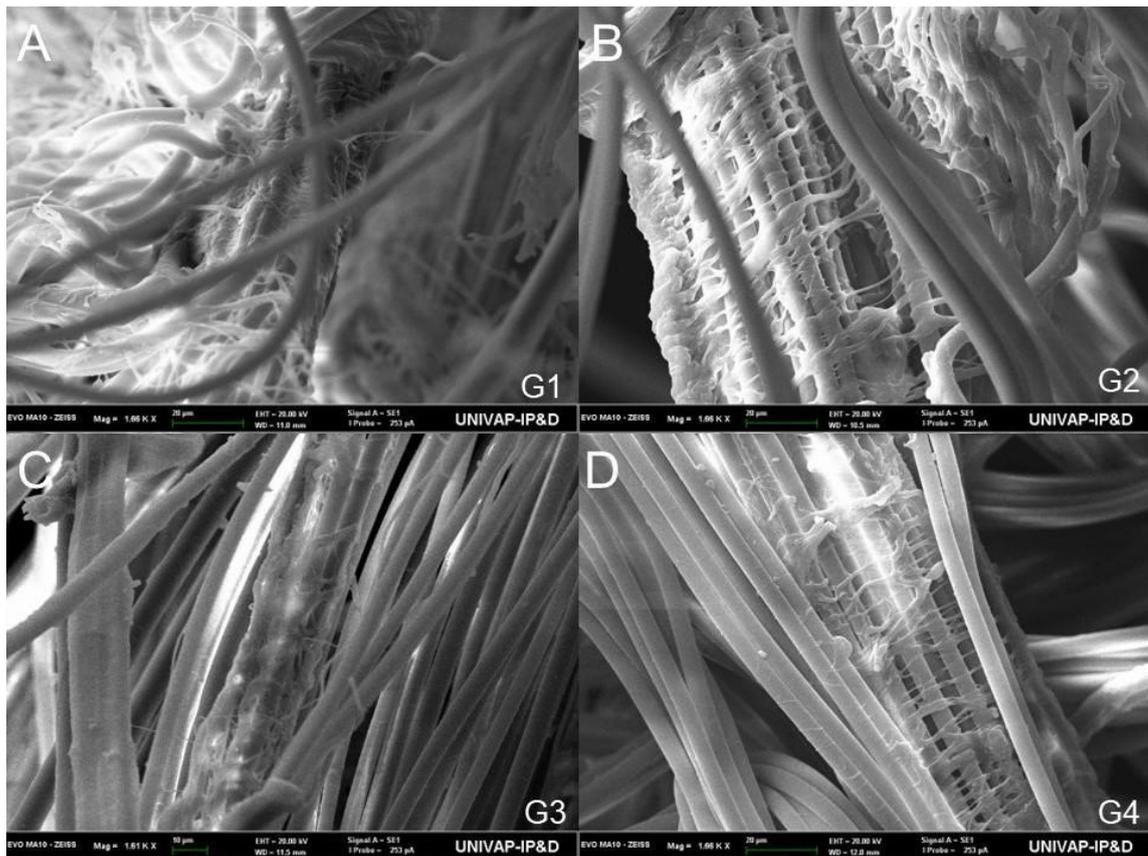
Figura 2: Morfologia das sedas brancas, G3 não autoclavada e G4 autoclavada



Fonte: o autor.

Nas imagens obtidas das quatro amostras, foram observadas estruturas de fios agrupados e unidos por filamentos transversais às conectando. As estruturas semelhantes podem ser observadas na Figura 3A que mostra a imagem da seda amarela não autoclavada, na Figura 3B que mostra a imagem da seda amarela autoclavada, na Figura 3C que mostra a imagem da seda branca não autoclavada e na Figura 3D que mostra a imagem da seda branca autoclavada.

Figura 3: Comparação de estruturas das sedas amarela e branca



Fonte: o autor.

Discussão

Ao analisar as imagens obtidas através da microscopia eletrônica de varredura, foi possível observar estruturas presentes em ambos os tipos de amostra, tanto na teia amarela quanto na teia branca. Além da presença dessas estruturas nos diferentes tipos de teia, elas também se mantiveram em ambas as amostras após o processo de esterilização, indicando que não houve deterioração de estruturas específicas das teias causada por exposição à pressão e temperatura da autoclave.

Estes resultados corroboram com as descobertas de Cunniff *et al.* (1994), tendo em vista sua observação das propriedades mecânicas dos fios de seda mudarem por volta de 210 °C, demonstrando características de derretimento parcial. Com as imagens obtidas neste estudo, foi possível analisar visualmente que não houve a ocorrência de derretimento ou modificação das estruturas da seda nas temperaturas normalmente utilizadas para a esterilização de materiais. Os fios não apresentaram nenhuma diferença entre as amostras autoclavadas e não-autoclavadas, além de as estruturas específicas encontradas no material também não terem sofrido nenhuma alteração em sua conformação.

Os resultados obtidos em relação a estabilidade da seda de aranha em temperaturas utilizadas para a esterilização de materiais, indicam propriedades promissoras para a sua utilização como material biocompatível em laboratórios e hospitais, uma vez que ao ser esterilizado não apresentou perda das características morfológicas aqui analisadas. Ao comparar o histórico do material e suas utilizações ao longo da história seguindo os estudos de Newman e Newman (1995), além de suas diversas propriedades previamente estudadas em outros trabalhos, como a sua biocompatibilidade, resistência mecânica, capacidade de adesão celular, entre outras, é possível que o material se torne uma matéria prima viável para a confecção de instrumentos como fios de sutura (Hennecke *et al.*, 2013), já que podem ser diretamente esterilizados sem a preocupação de que suas propriedades sejam afetadas (Cunniff *et al.*, 1994), permitindo que sua utilização dentro de pacientes não cause complicações ou efeitos adversos. Outra utilização viável é na área de cultura de células, podendo ser utilizado como *scaffold*.

Conclusão

Ao comparar as imagens obtidas das amostras de seda amarela coletadas no ambiente natural dos espécimes com as imagens obtidas das amostras de seda branca coletadas em laboratório, observou-se que ambas as amostras, que foram produzidas pelos mesmos espécimes, apresentavam estruturas idênticas, mesmo que sua coloração fosse diferente.

Referências

BON, F. X. I. A discourse upon the usefulness of the silk of spiders. by Monsieur Bon, President of the Court of Accounts, Aydes and Finances, and President of the Royal Society of Science at Montpellier. Communicated by the Author. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, v. 27, n. 325, p. 2–16, 31 dez. 1710.

CUNNIFF, P. M. et al. Mechanical and thermal properties of dragline silk from the spider *Nephila clavipes*. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 5, n. 8, p. 401–410, ago. 1994.

HENNECKE, K. et al. Bundles of Spider Silk, Braided into Sutures, Resist Basic Cyclic Tests: Potential Use for Flexor Tendon Repair. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e61100, 17 abr. 2013.

HENNECKE, Kathleen et al. Bundles of spider silk, braided into sutures, resist basic cyclic tests: potential use for flexor tendon repair. **PLoS one**, v. 8, n. 4, p. e61100, 2013.

NEWMAN, James; NEWMAN, Catherine. Oh what a tangled web: the medicinal uses of spider silk. **International journal of dermatology**, v. 34, n. 4, 1995.

RADTKE, C. et al. Spider Silk Constructs Enhance Axonal Regeneration and Remyelination in Long Nerve Defects in Sheep. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, p. e16990, 25 fev. 2011.