

Biologická interakce s uhlíkovými nanostrukturami

Bc. Adéla Coufalová, Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.

Abstrakt

Jedním z velkých témat dnešní medicíny jsou tělní implantáty. Pro zachování potřebných mechanických vlastností implantátu a zároveň dosažení nutné biokompatibility jsou povrchy implantátů potahovány tenkými uhlíkovými vrstvami. Práce se zabývá zkoumáním interakce tenkých vrstev TiCN s bakteriálním kmenem *E. coli*. Navázáním na tuto práci by mělo být otestování interakce s tkáňovými buňkami fibroblasty a následná modifikace povrchů. Cílem modifikace bude podpora proliferace tkáňových buněk a zároveň potlačení kolonizace povrchu bakteriální populací.

Úvod

Kovové slitiny vykazují výborné mechanické vlastnosti, ale při jejich aplikaci občas dochází k negativní imunitní odpovědi organismu způsobené obsahem alergenních prvků ve slitině. Řešením tohoto problému bývá pokrytí povrchu implantátu tenkou vrstvou. Často se využívají tenké uhlíkové vrstvy, protože jsou chemicky inertní a zároveň vykazují vysokou korozní odolnost a tvrdost. Kromě běžně využívaných DLC (uhlíkových vrstev podobných diamantu) se využívají také uhlíkové vrstvy s přidaným kovem.

U tělních implantátů je velice důležité, aby jejich vlastnosti podporovaly proliferaci a uchycování tkáňových buněk a tím došlo k rychlému přijetí tělní náhrady pacientovým organismem. Velkým problémem u tělních náhrad je riziko osídlení bakteriální populací (např. *Staphylococcus epidermidis*). Při vytvoření bakteriálního biofilmu na povrchu implantátů je nutná operace, která znamená další zátěž pro tělo pacienta.

Experiment a metody

Tato práce je zaměřena na TiCN tenké vrstvy nanesené na chirurgické oceli AISI 316. Vzorky byly připraveny v Centrální laboratoři aplikované fyziky na Bulharské akademii věd v Plovdivu, za použití metody PVD napařování elektrickým obloukem. Podmínky depozice jednotlivých druhů vrstev se lišily poměrem plynů, napětím i proudem.

Analýza chemického složení povrchu byla provedena na rastrovacím elektronovém mikroskopu Carl Zeiss ULTRA Plus pomocí EDX analýzy. Drsnost povrchu byla vyhodnocena pomocí mikroskopie atomárních sil, při které byl využit tzv. nekontaktní režim. Pro toto měření byl použit přístroj JPK Nanowizard 3 a naměřená data byla následně zpracována v softwaru Gwyddion. Na skenované ploše byla vyhodnocena plošná drsnost povrchu Ra. Test smáčivosti byl proveden na přístroji Surface Energy Evaluation System (See System).

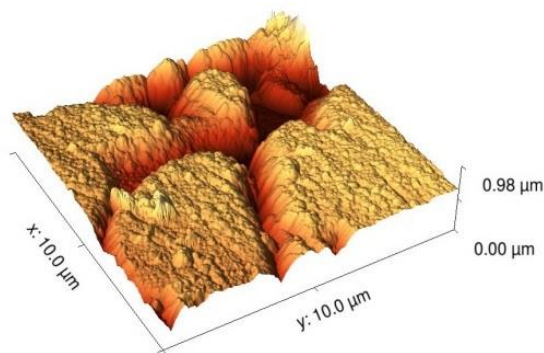
Interakce povrchu s bakteriální populací byla vyhodnocena metodou počítání KTJ (kolonie tvořící jednotky). Byla zvolena bakterie *Escherichia coli*, která je ve velké míře využívána jako modelový organismus pro biologické testy v medicíně i biotechnologiích. Pro zobrazení vznikajícího biofilmu byl využit rastrovací elektronový mikroskop Carl Zeiss ULTRA Plus.

Výsledky a diskuze

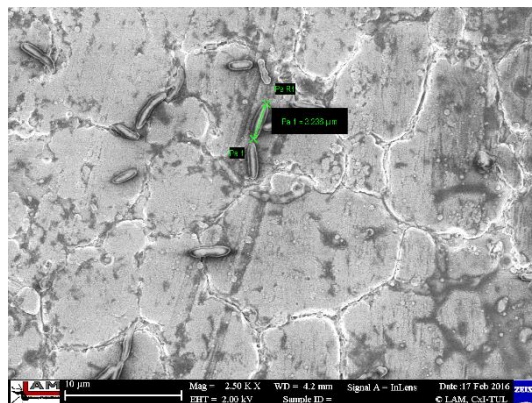
Biologická interakce byla vyhodnocena na základě tří druhů kultivačních testů. Bylo zjištěno, že nejvýraznější vliv na tvorbu biofilmu z hlediska fyzikálně-chemických parametrů měla hydrofobicita povrchu. Čím více byl vzorek hydrofobní, tím více bakterií se na jeho povrchu přichytilo. Plošná drsnost povrchu (obrázek 1) měla na tvorbu biofilmu rovněž pozitivní vliv. Jako třetí významný faktor

ovlivňující adhezi bakterií se v literatuře uvádí chemické složení povrchu. V případě vzorků s TiCN vrstvami měl obsah jednotlivých prvků na povrchu minimální vliv na tvorbu biofilmu. Pouze obsah uhlíku vykazoval po 24 hodinách slabý pozitivní efekt. Viabilita bakterií byla hodnocena také pomocí SEM (obrázek 2).

Ze získaných dat lze vyvodit závislosti mezi vlastnostmi majícími vliv na biologickou interakci a parametry při nanášení vrstvy. Dle provedených korelací neměl žádný z parametrů depozice výrazný vliv na výslednou hydrofobicitu povrchu. Na plošnou drsnost povrchu měl výrazný vliv proud použitý při depozici. U vzorků deponovaných při vyšším proudu, byla drsnost nejnižší. Chemické složení bylo nejvíce ovlivněno poměrem plynů při depozici.



Obrázek 1. Vyhodnocení plošné drsnosti povrchu pomocí AFM



Obrázek 2. Jednotlivé bakterie Escherichia coli po 1 hodině kontaktu bakteriální suspenze s povrchem.

Závěr

Uvedené výsledky představují teprve zlomek vznikající diplomové práce. Konečným cílem této diplomové práce bude provést testy smáčivosti a drsnosti a vyhodnocení chemického složení povrchů u vrstev TiCN a CrCN. Poté budou provedeny testy bakteriální interakce, interakce s tkáňovými buňkami a testy cytotoxicity. Po modifikaci pomocí atmosferické plasmu budou veškeré testy provedeny znovu a bude vyhodnocen vliv atmosferické plasmu na tenké uhlíkové vrstvy. Druhý typ modifikace by měl být založen na chemické funkcionalizaci (např. hydroxylovými skupinami). U modifikací bude následně porovnáváno, která z nich lépe potlačuje tvorbu bakteriálního biofilmu a zároveň podporuje přilnutí fibroblastů k povrchu.

Poděkování

Ráda bych poděkovala Mgr. Petře Rosické, Ing. Totce Bakalové Ph.D a Ing. Lucii Svobodové Ph.D. za odborné rady a čas, který mi v průběhu zpracování této práce věnovaly. Děkuji také Ing. Lukáši Voleskému a Ing. Pavlu Kejzlarovi Ph.D. za pomoc s analýzou mnou studovaných vzorků.

Reference

- [1] OHRING, Milton, 2001. *Materials Science of Thin Films*. B.m.: Academic Press.
- [2] BLAŽEK, Tomáš, 2015. *Studium vlastností tenkých vrstev a jejich aplikace v medicíně*. Technická univerzita Liberec, Fakulta strojní.
- [3] ROMEO, Tony, ed., 2008. *Bacterial Biofilms* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. Current Topics in Microbiology and Immunology
- [4] MITURA, Katarzyna, 2005. *Interactions between carbon coatings and tissue*. Sur-face & Coatings Technology. 13. 11., roč. 201-(2006), č. 2117–2123.