

Biologická interakce s uhlíkovými nanostrukturami

Autor: Bc. Adéla COUFALOVÁ
Vedoucí práce: Ing. Lucie SVOBODOVÁ, Ph.D.

Abstract

Body implants are common a part of the present medicine. We could encounter their usage in orthopedics, traumatology, stomatology and other medical disciplines. Basic parameters for material used for crafting an implant are its biocompatibility and durability. Solution to these requirements is covering the surface area of the implant with a thin layer. Desirable mechanical durability can be reached this way while still accomplishing required chemical and biological properties of the surface. Thin carbon layers are often used for this purpose, because they are chemically inert while still being highly corrosion resistant and hard.

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. Při vytvoření bakteriálního biofilmu na povrchu implantátů je nutná operace, která znamená další zátěž pro tělo pacienta.

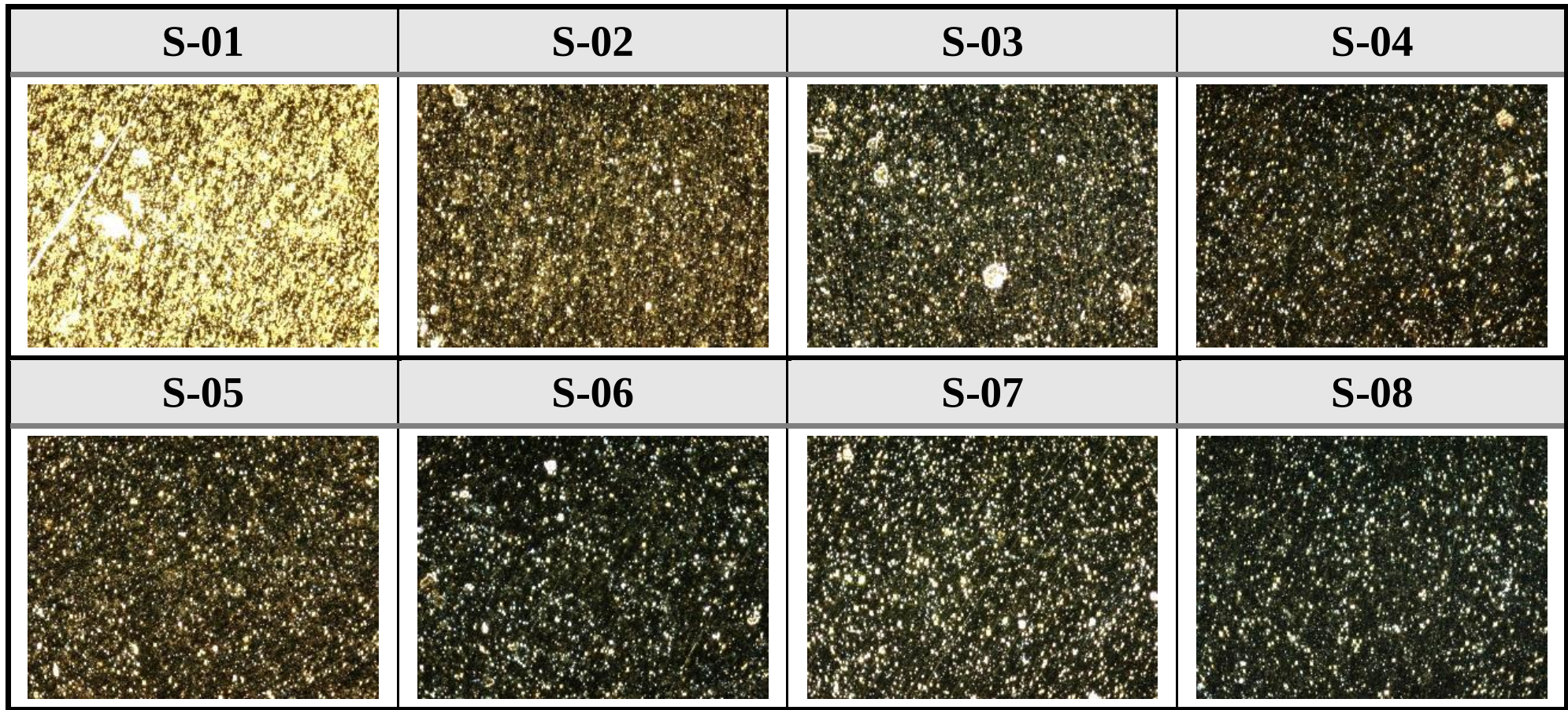
Cíle

- vyhodnocení smáčivosti, drsnosti a chemického složení vrstev TiCN a CrCN
- vyhodnocení bakteriální interakce, interakce s tkáňovými buňkami, a cytotoxicity
- modifikace pomocí atmosferické plazmy
- chemická funkcionalizace povrchů
- porovnání modifikací

Metodika a výsledky

Mechanické vlastnosti TiCN tenkých vrstev

Povrch vzorků pod optickým mikroskopem (zvětšení 500x)



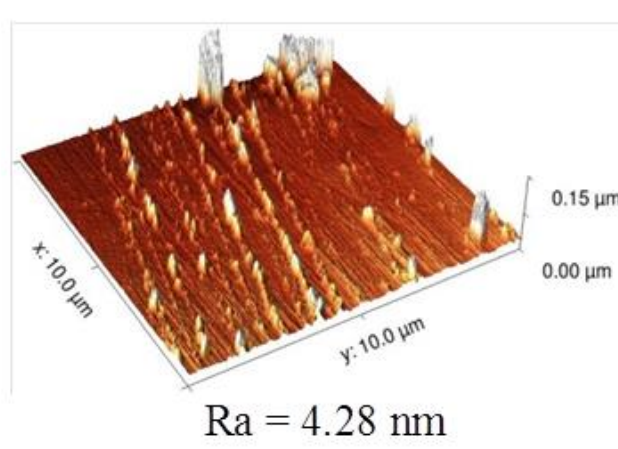
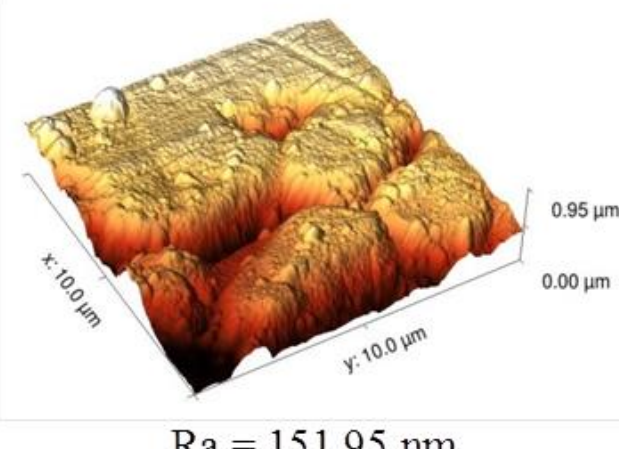
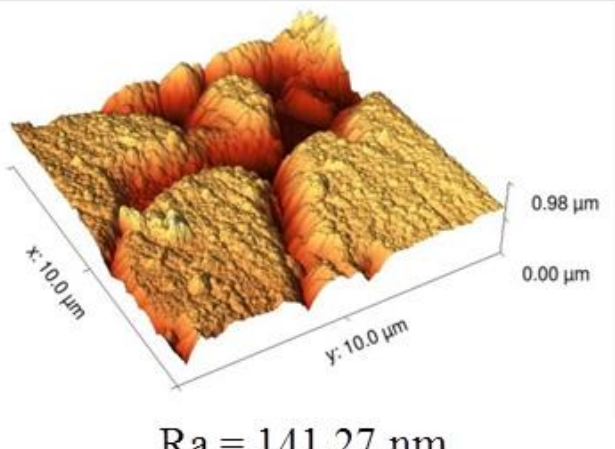
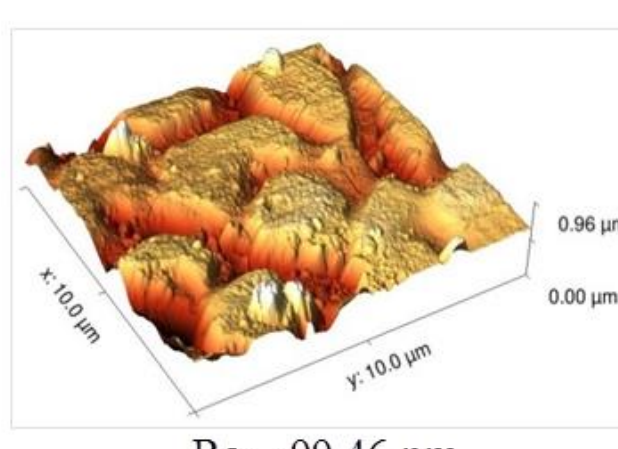
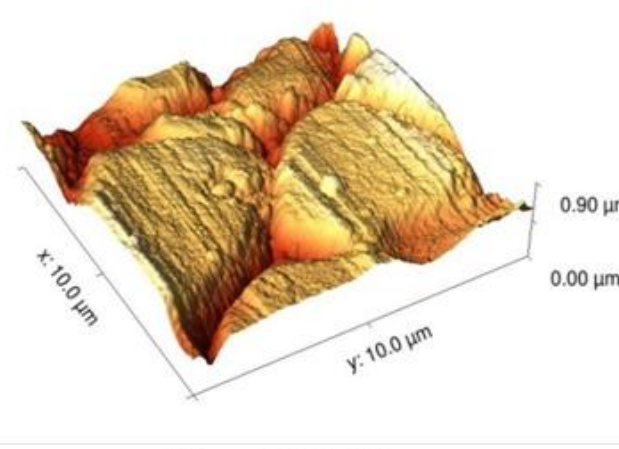
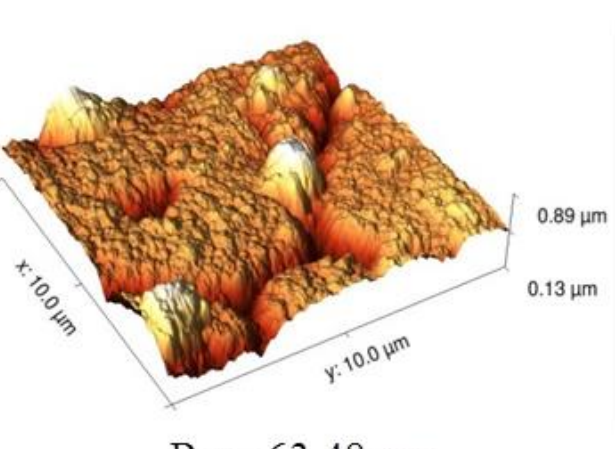
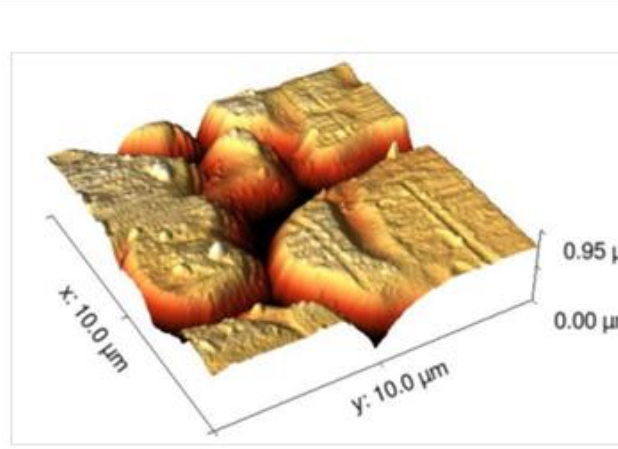
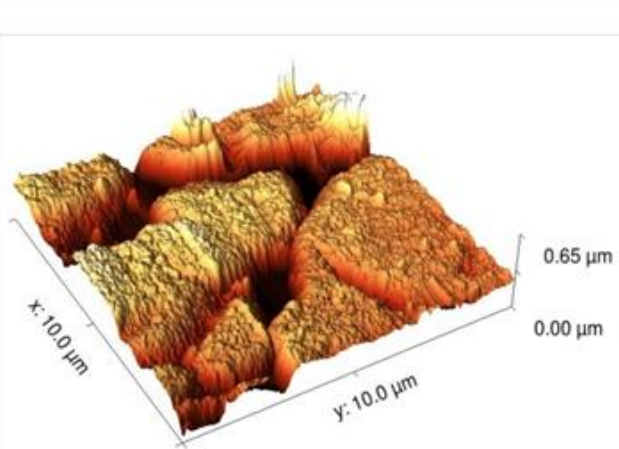
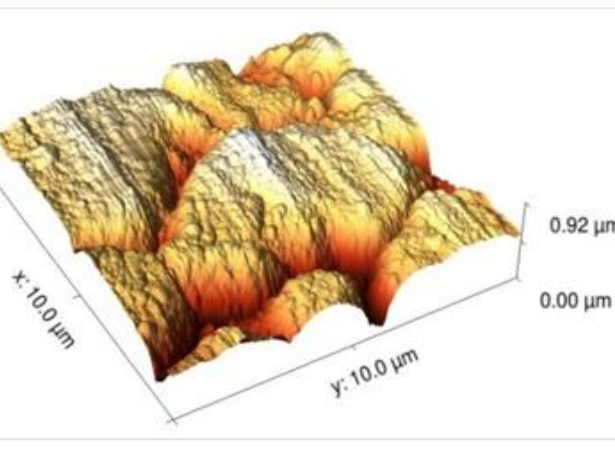
TiCN tenké vrstvy byly naneseny na chirurgickou ocel AISI 316. Vzorky byly připraveny v Centrální laboratoři aplikované fyziky na Bulharské akademii věd v Plovdivu, za použití metody PVD napařování elektrickým obloukem. Podmínky depozice jednotlivých druhů vrstev se lišily poměrem plynů, napětím i proudem.

Chemické složení povrchu vzorků

[%]	Procentuální zastoupení prvků							
	S-01	S-02	S-03	S-04	S-05	S-06	S-07	S-08
C	9.0	23.1	32.8	30.4	23.2	47.0	38.3	53.1
N	41.2	28.1	30.7	31.7	34.6	22.1	26.3	12.7
O	2.5	10.8	6.9	5.4	3.4	10.4	7.0	20.2
Ti	47.3	38.0	29.5	32.5	38.8	20.6	28.4	13.9
[nm]	Tloušťka vrstev							
t	664	718	1020	734	1534	1265	2383	1371

Analýza chemického složení povrchu byla provedena na rastrovacím elektronovém mikroskopu Carl Zeiss ULTRA Plus pomocí EDX analýzy. Obsah jednotlivých prvků na povrchu měl minimální vliv na tvorbu biofilmu. Pouze obsah uhlíku vykazoval po 24 hodinách slabý efekt.

Plošná drsnost povrchu

	3D profile		3D profile		3D profile
Kontrolní vzorek	 Ra = 4.28 nm	S-03	 Ra = 151.95 nm	S-06	 Ra = 141.27 nm
S-01	 Ra = 99.46 nm	S-04	 Ra = 104.11 nm	S-07	 Ra = 63.48 nm
S-02	 Ra = 116.51 nm	S-05	 Ra = 73.25 nm	S-08	 Ra = 118.61 nm

Drsnost povrchu byla vyhodnocena pomocí mikroskopie atomárních sil, při které byl využit tzv. nekontaktní režim. Pro toto měření byl použit přístroj JPK Nanowizard 3. Bylo prokázáno, že čím větší nanodrsnost povrchu, tím větší procento navázaných bakterií na povrchu.

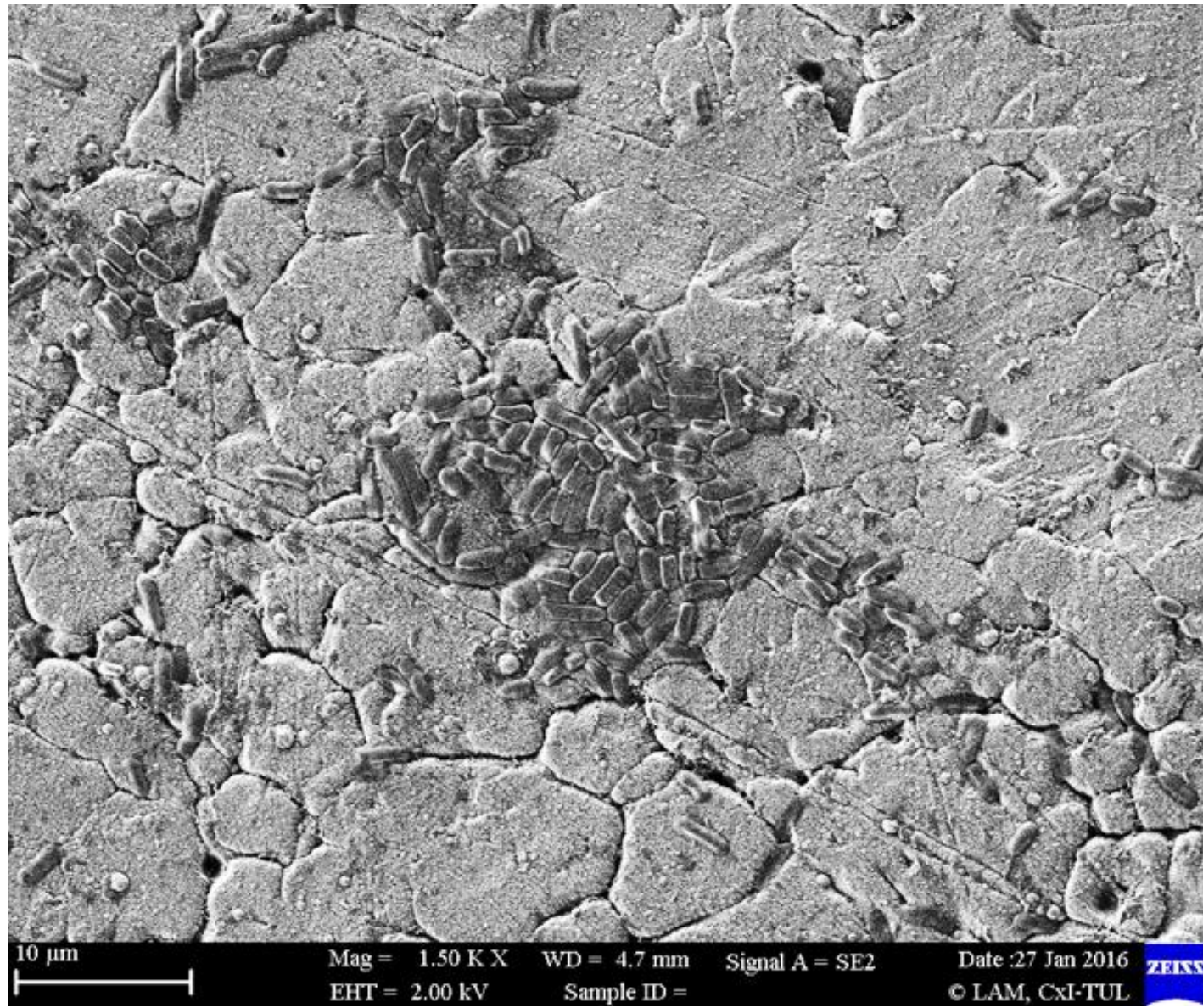
Smáčivost povrchu (kontaktní úhel)

[°]	Kontrolní vzorek	S-01	S-02	S-03	S-04	S-05	S-06	S-07	S-08
θ	33.84	47.80	72.86	61.35	58.47	68.86	56.23	51.55	57.52

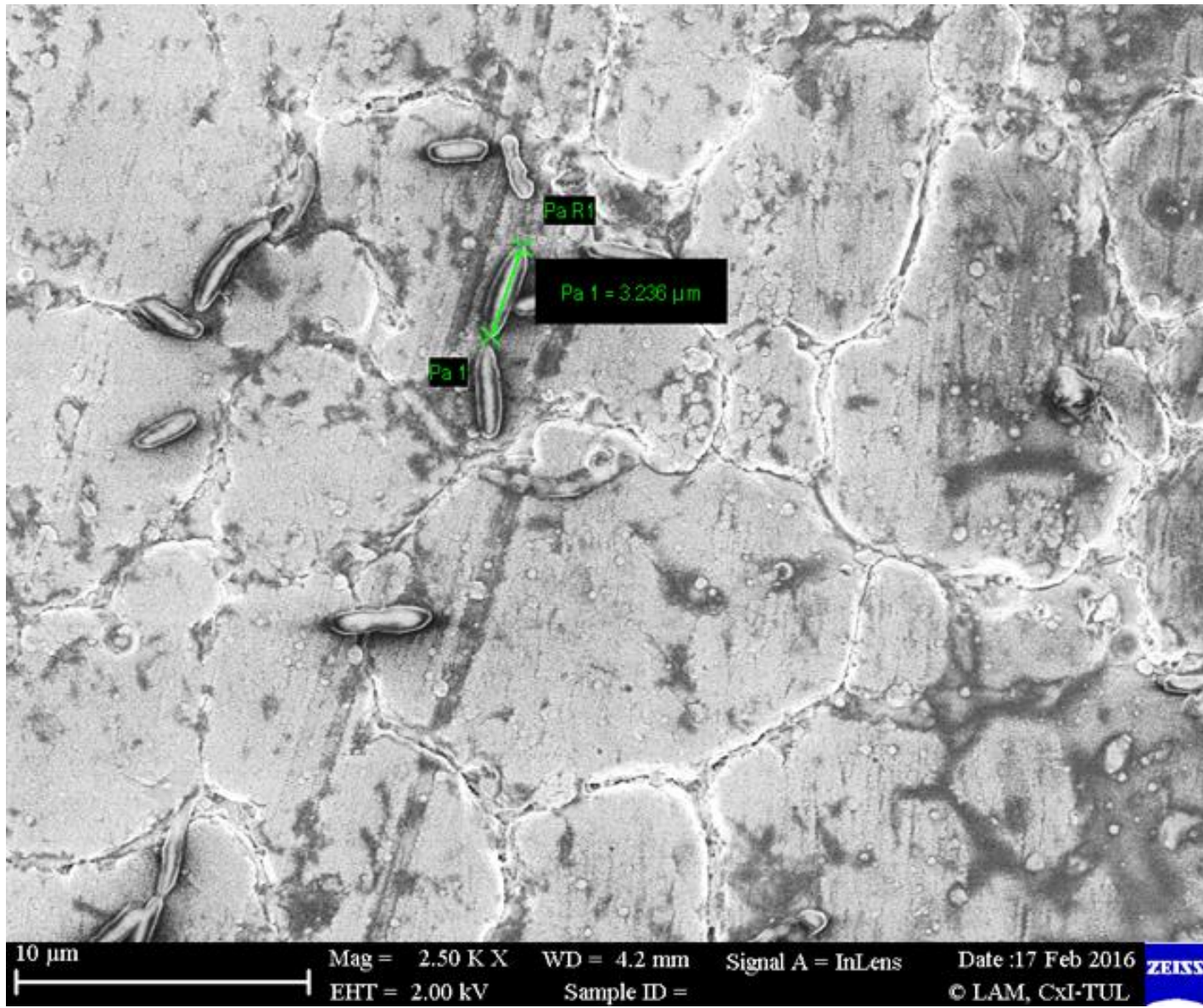
Test smáčivosti byl proveden na přístroji Surface Energy Evaluation System (See System). Bylo zjištěno, že nejvýraznější vliv na tvorbu biofilmu z hlediska fyzikálně-chemických parametrů měla hydrofobita povrchu. Čím více byl vzorek hydrofobní, tím více bakterií se na jeho povrchu přichytilo.

Biologická interakce s tenkými vrstvami

Vznikající kolonie bakterií.



Bakterie po jedné hodině kontaktu s povrchem.



Korelační koeficient mezi chemickým složením, drsností, hydrofobitou a mikrobiologickými kultivačními testy.

		Kapkový test	Suspenze 1 hodina	Suspenze 24 hodin
Obsah prvků	C	0.16	0.27	0.42
	N	-0.16	-0.29	-0.35
	O	0.11	0.20	0.19
	Ti	-0.14	-0.23	-0.37
Drsnost povrchu		0.46	0.60	0.56
Hydrofobnost povrchu		0.93	0.90	0.95

Diskuze a závěr

Dle našich výsledků měla rozhodující vliv na tvorbu biofilmu právě hydrofobnost povrchu. Čím byl vzorek hydrofobnější, tím více bakterií adherovalo na jeho povrch. Další vlastností ovlivňující tvorbu biofilmu byla drsnost povrchu. Naopak chemické složení vzorků nemělo zásadní vliv na tvorbu biofilmu. Pouze vzorky s vyšším procentem uhlíku vykazovaly vyšší počet bakterií naadherovaných na povrch po 24 hodinách. Na základě těchto výsledků budou vybrány vhodné modifikace povrchů, které by minimalizovaly uchycení bakterií na povrchu, ale zároveň podpořily přilnutí tkáňových buněk.

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