

VÝPLŇOVÉ MATERIÁLY NA BÁZI SILK FIBROINU PRO ORTOPEDICKÉ APLIKACE

Poláková Dagmar^{1,2}, Víchová Iva², Schaabová Markéta², Michal Malík¹, Martinová Lenka²

¹ Technická univerzita v Liberci, Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií

² Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, Liberec

dagmar.polakova@tul.cz

Abstrakt

I přes stále se zlepšující úroveň je osteomyelitida pro současnou ortopedii velmi významným problémem. Přibližně 80% všech případů chronické osteomyelitidy je způsobeno posttraumatickým nebo postoperativním zánětem a přibližně jedna třetina těch, které se z akutní vyvinou do chronické fáze je zapříčiněna tvorbou bakteriálního biofilmu na povrchu implantátů. Biokompatibilní materiál s antibakteriální aktivitou, vhodnou morfologií a degradabilitou by byl optimální volbou pro náhradu kostní tkáně. Na základě biomimetického přístupu byly úspěšně vytvořeny nosiče kombinující organickou a anorganickou složku ve formě směsných sférických částic. Organickou část materiálu tvoří silk fibroin (SF), protein izolovaný z kokonů bource morušového (*Bombyx mori*). Anorganickou část pak reprezentují nanočástice hydroxyapatitu (HA), hlavní minerální součásti lidské kosti. Byla vytvořena škála částic s hmotnostním obsahem hydroxyapatitu vůči silk fibroinu od 0 do 50%. V rámci profylaxe postoperativní bakteriální kontaminace byly směsné sférické částice doplněny také o gentamicin-sulfát, antibiotikum se širokým spektrem účinku. V podmínkách *in vitro* byl studován vliv jednotlivých příměsí na morfologii sférických částic, jejich účinek na růst modelových bakteriálních kmenů a v neposlední řadě také na viabilitu lidských osteoblastů v přímém kontaktu s připravenými materiály.

VÝSLEDKY

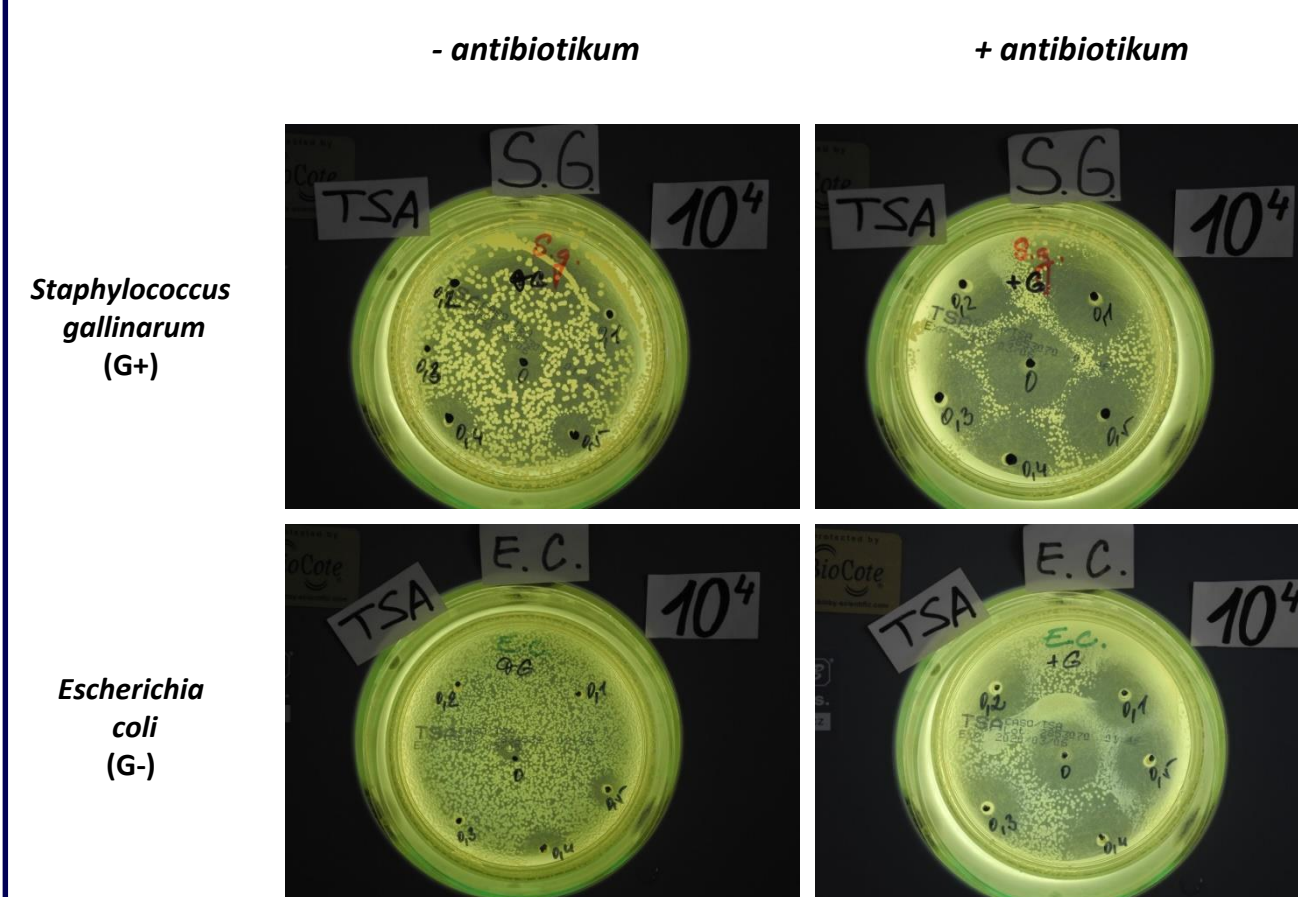
Izolace SF



Schéma izolace SF

Kokony podstupují v první fázi krok degumizace, při které dojde k uvolnění vláken fibroinu a odstranění sericinu, který zajišťuje kompaktnost kokonu. Vysušená vlákna SF jsou rozpuštěna v roztoku CaCl₂ a následně dialyzována proti vodě. Částice HA a/nebo antibiotika jsou následně přidána do roztoku SF, který je následně vkapáván do tekutého dusíku a lyofilizován. Vzhledem k rozpustnosti materiálů na bázi SF jsou všechny formy ihned po zpracování stabilizovány.

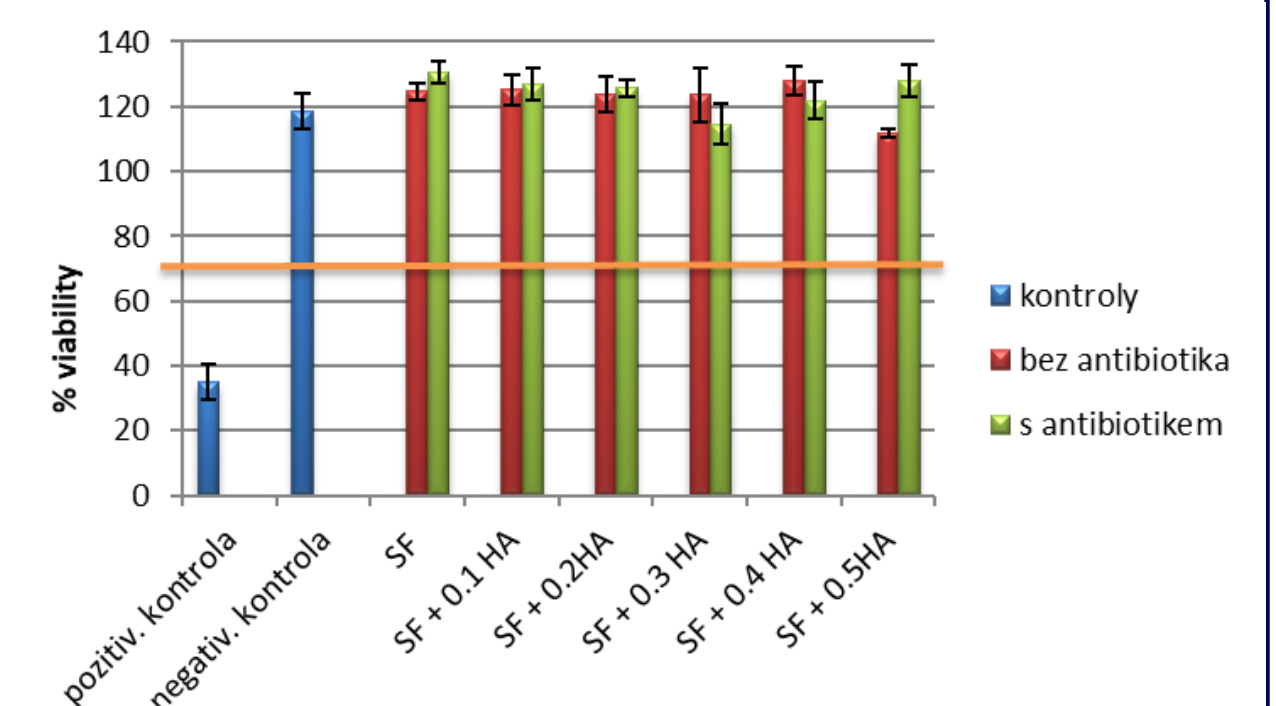
Antibakteriální aktivita



Test antibakteriální aktivity materiálů

Nosiče s různým poměrem HA a/nebo antibiotika byly inkubovány v přímém kontaktu s bakteriální suspenzí na agarových půdách po dobu 24 hod. Byl testován efekt na růst gram pozitivních (*Staphylococcus gallinarum*) i gram negativních (*Escherichia coli*) kmenů bakterií.

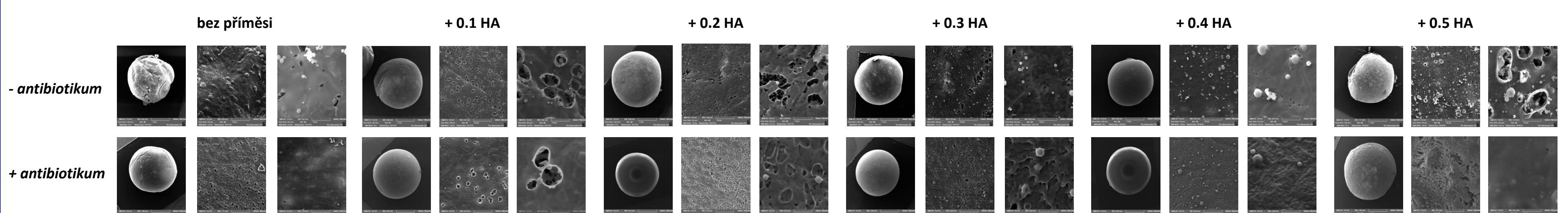
Viabilita kostních buněk



Test viability lidských osteoblastů v přímém kontaktu s materiály

Viabilita buněčné linie lidských osteoblastů (MG 63) byla testována pomocí metabolického MTT testu. Buňky byly inkubovány s připravenými materiály po dobu 24 hod a následně k nim byl přidán 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid (MTT). Ten je u metabolicky aktivních buněk přeměňován na ve vodě nerozpustný formazan, který je následně spektrofotometricky stanovován při 570 nm. Jako kontroly byly použity ZDEC-PU (pozitivní) a HDPE (negativní). Oranžově byla vyznačena hranice cytotoxicity odpovídající 70% viability neovlivněných buněk.

Morfologie připravených materiálů



Analýza morfologie připravených materiálů pomocí SEM

Morfologie všech připravených materiálů byla analyzována pomocí skenovací elektronové mikroskopie při 50x, 1000x a 5000x zvětšení.

VÝSLEDKY

- ➔ Na základě biomimetického přístupu byly úspěšně vytvořeny sférické částice kombinující organickou a anorganickou složku
- ➔ Příměs antibiotika ani hydroxyapatitu nesnižovala viabilitu buněčné linie lidských osteoblastů
- ➔ Příměs gentamicin-sulfátu výrazně zvyšovala antibakteriální efekt na modelové kmeny gram pozitivních i gram negativních bakterií

Poděkování

- Studentské grantové soutěži (SGS) na Technické univerzitě v Liberci v roce 2020
- Technologické agentuře ČR za podporu grantem TH03020281
- MŠMT v rámci programu Operační program a Výzkum a vzdělávání za podporu projektem Hybridní materiály pro hierarchické struktury CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000843