

NANOKOMPOZITNÉ MATERIÁLY TYPU STRIEBRO-POLYMÉR V BIOINŽENÝRSTVE

JAKUB SIEGEL, INGRIDA NEMOGOVÁ,
MARKÉTA POLÍVKOVÁ a VÁCLAV ŠVORČÍK

Ústav inženýrství pevných látek, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha
jakub.siegel@vscht.cz

Došlo 23.5.18, prijaté 26.6.18.

Kľúčové slová: príprava nanoštruktúr, nanokompozity,
excimérový laser, antibakteriálna aktivita

Obsah

1. Úvod
2. Nanokompozity s polymérou maticou
 - 2.1. Polymérne substráty využívané v biomedicíne
 - 2.2. Poly(etylénaftalát)
 - 2.3. Strieborné nanodrátky na biokompatibilných polyméroch
3. Príprava nanoštruktúrovaných biokompatibilných polymérnych povrchov
 - 3.1. Tvorba periodických nanoštruktúr excimérovým laserom
 - 3.2. Príprava tenkých vrstiev vákuovým naparováním
4. Antibakteriálna aktivita strieborných nanoštruktúr
 - 4.1. Priamy antibakteriálny účinok nanostriebrá
 - 4.2. Mechanizmus uvoľňovania Ag⁺ iónov a ich baktericídny účinok
 - 4.3. Oxidačný stres
5. Záver

1. Úvod

Nanomateriály (NM) sa zaraďujú medzi najperspektívnejšie materiály súčasného technologického vývoja a v posledných rokoch si vydobyli titul „materiálov 21. storočia“. Vzhľadom na ich jedinečný dizajn a vlastnosti v rozmedzí veľkostí 1–100 nm aspoň pre jeden sledovaný rozmer, existuje široká škála aplikácií NM v priemyselnom, lekárskom, biomedicínskom, inžinierskom, elektronickom alebo environmentálnom odvetví. Pomerne veľká časť výskumu je sústredená na prípravu nanoštruktúr v podobe 0D kvantových bodiek a nanočastíc, 1D nanorúrok a nanodrátkov, 2D tenkých filmov a vrstiev alebo 3D polykryštálov, s cieľom vytvoriť nové typy materiálov využiteľných v biomedicíne. K najpouží-

vanejším nanomateriálom, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu v oblasti nanomedicíny, patria strieborné nanoštruktúry. Napriek tomu, že sa pri požadovaných biomedicínskych aplikáciách testovali rôzne kovové nanoštruktúry, najlepšie výsledky, čo sa týka najmä antibakteriálnych účinkov, zaznamenali práve strieborné nanomateriály. Mechanizmus antibakteriálnej aktivity Ag nanomateriálov je najčastejšie popisovaný na princípe priameho účinku ich povrchu s bunkami baktérií alebo pôsobenia Ag⁺ iónov, ktoré vznikajú počas rozpúšťania Ag nanoštruktúr.

2. Nanokompozity s polymérou maticou

Polyméry sú vo všeobecnosti považované za vhodné matrice pre kompozitné materiály predovšetkým vďaka ich dlhodobej stabilite a dobrej spracovateľnosti. Anorganické nanoštruktúry naopak disponujú vynikajúcimi mechanickými, optickými, katalytickými, elektrickými či magnetickými vlastnosťami, ktoré sú výrazne odlišné v bulkovom stave materiálu. Kombináciou dominujúcich charakteristík organických polymérov a anorganických nanoštruktúr získavame nanokompozity so synergicky vylepšenými užitočnými vlastnosťami. Inkorporáciou typovo, rozmerovo, tvarovo a koncentračne rozličných nanoštruktúr do polymérou matrice je možné pripraviť pestrú škálu polymérnych nanokompozitov s požadovanými vlastnosťami pre dané aplikácie^{1,2}.

V porovnaní s keramickými alebo kovovými substrátmi vykazujú polyméry pomerne nízku pevnosť³. Za účelom zlepšenia mechanických, ale taktiež tepelných a elektrických vlastností sa do polymérou matrice začleňujú uhlíkové nanorúrky⁴ či nanovrstvy grafénu⁵. Z keramických nanoštruktúr sa pre zvýšenie nehorľavosti a mechanických vlastností polymérov hojne využívajú nanovrstvy fylosilikátov získavané z ílovitých materiálov. Do skupiny najrozšírejších anorganických nanomateriálov patria kovové nanoštruktúry, predovšetkým na báze striebra, ktoré popri výborných elektrických, optických či magnetických vlastnostiach vykazujú antibakteriálne účinky^{1,6–13}.

2.1. Polymérne substráty využívané v biomedicíne

Na výrobu polymérnych nanokompozitov, určených pre biologické a medicínske aplikácie sa využívajú matrice z prírodných, syntetických alebo tzv. inteligentných polymérov. Najčastejšie používané prírodné polyméry možno kategorizovať do troch nasledujúcich skupín, a to na polynukleotidy, proteíny a polysacharidy. Všetky spomínané skupiny spĺňujú podmienky antibakteriálnej aktivity, biokompatibility a bioadhezivity, polysacharidy sú navyše

biodegradabilné¹⁴.

Hlavnými benefítmí použitia prírodných biopolymérov v kompozitných materiáloch sú ľahká rozpoznateľnosť a metabolizácia ľudským telom pri vyššom stupni interakcie s okolitým tkanivom. Nevýhoda prírodných polymérov spočíva v ich tendencii vyvolávať imunitnú odpoveď na nečistoty prítomné v surovinách. Medzi nečistoty, nachádzajúce sa v prirodzene extrahovaných polyméroch, sa zaraďujú proteíny, endotoxíny, ťažké kovy a polyfenolické zlúčeniny. Ďalšími nežiaducimi atribútmi sú limitované mechanické vlastnosti a slabá bunková adhézia. Tieto nedostatky sú kompenzované procesmi zmiešania rôznych druhov polymérov do výsledného kompozitu, alebo začlenením nanofilérov do polymérnej matrice¹⁵.

Vzhľadom k tomu, že sú syntetické polyméry v porovnaní s prírodnými menej dostupné, nemožno ich bežne považovať za ich ekonomický ekvivalent. Avšak syntetické polyméry predstavujú vhodnejšiu alternatívu substrátov pre nanokompozity vďaka dlhšej skladovateľnosti, rovnomernosti mikroštruktúry, vysokej mechanickej pevnosti a reprodukovateľnosti¹⁶. V oblasti biomedicíny sa zo skupiny nedegradabilných polymérov využívajú prevažne polyolefíny, silikóny, polyamidy a zo skupiny degradabilných polymérov polyester a polyétery.

V posledných rokoch je vývoj polymérov v oblasti biomedicíny a tkanivového inžinierstva zúžený prevažne na prípravu špeciálnej skupiny materiálov tzv. kompozitných inteligentných polymérov, ktoré delíme do niekoľkých skupín:

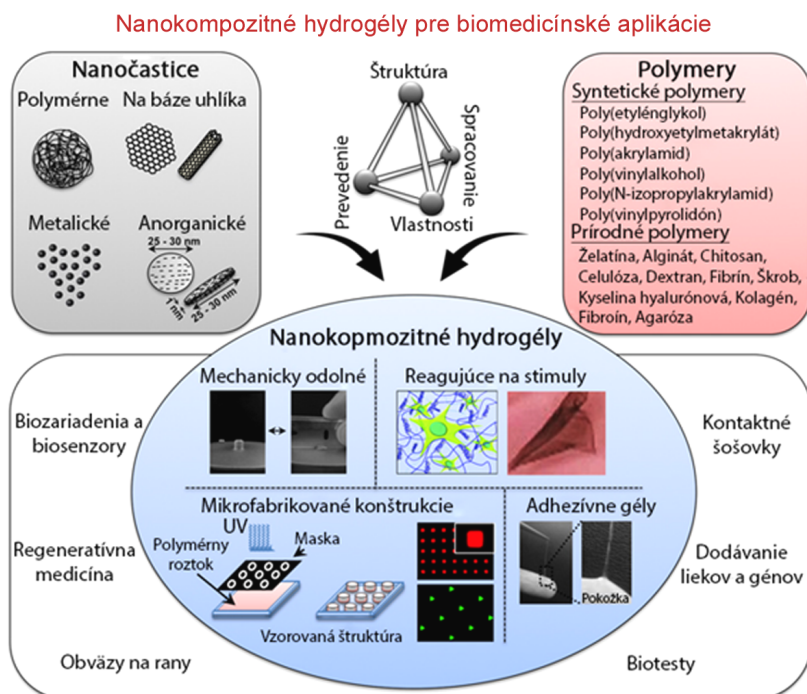
– hydrogély,

- samoregeneračné polyméry,
- na podmet reagujúce polyméry,
- polyméry s tvárovou pamäťou.

Hydrogély patria k hojne rozšíreným kompozitom vďaka jedinečnej poréznej a hydratovanej štruktúre, ktorá pripomína prirodzené tkanivové mikroprostredie. Vysoko organizovaná hydratovaná polymérna sieť umožňuje tvarovanie hydrogélov do požadovaných tvarov a veľkostí. Pre zvýšenie mechanických a biologických vlastností sa do matrice zvyčajne začleňujú fyzikálne alebo chemicky viazané nanoštruktúry.

Vo všeobecnosti výber nanomateriálov závisí hlavne od zamýšľanej aplikácie výsledných nanokompozitov. Pri vývoji elektricky vodivých srdcových, nervových či svalových tkanív sa hydrogélová sieť vystieľa uhlíkovými nanorúrkami¹⁷. V oblasti distribúcie liečiv boli navrhnuté polymérne nanokompozity s inkorporovanými magnetickými kovovými nanočasticami v hydrogélovej matrici. Princíp spočíva v interakcii hydrogélu a kovových nanočastíc, ktoré rezonujú v prítomnosti magnetického poľa za súčasného zahrievania materiálu a kontrolovaného uvoľňovania terapeutických nanočastíc¹⁸. Príklady rôznych nanokompozitných hydrogélov využívaných v biomedicíne sú znázornené na obr. 1.

Samoregeneračné polyméry boli navrhnuté na základe myšlienky napodobiť živé organizmy, ktoré využívajú samovoľnú regeneráciu na obnovu vzniknutých defektov. Samoregeneračné polyméry majú schopnosť čiastočne opraviť poškodené časti materiálov a obnoviť ich mechanické vlastnosti, ktoré boli zhoršené v dôsledku opotrebo-



Obr. 1. Príklady využitia kompozitných hydrogélov v biomedicíne¹⁹

vania alebo dlhodobého používania v nevhodných podmienkach prostredia. Môžu byť klasifikované do automatických a neautomatických polymérov v závislosti od spontánnosti opravy poškodených častí. Kompozitá, ktoré uľahčujú spontánnu opravu v dôsledku prasknutia alebo poškodenia, sa označujú ako automatické samoregeneračné polyméry. Na druhej strane polyméry, ktoré vyžadujú vonkajšie podnety na iniciovanie hojenia, sú známe ako neautomatické samoregeneračné polyméry²⁰. Môžu byť kombinované s nanomateriálmi na prípravu gélov, ktoré tečú pod šmykovým napätím a tým distribuujú liečivá do určitého miesta v organizme, alebo sa môžu použiť na liečenie porúch centrálného nervového systému²¹. V súčasnosti sa k polymérnym nanokompozitom pridávajú niektoré špeciálne typy materiálov za účelom podporenia samoregeneračných vlastností materiálu. Napr. v štúdiu²² použili polyuretánové mikroštruktúry enkapsulované v 2-oktylkyanoakryláte na vytvorenie samoregeneračného cementu.

Polyméry reagujúce na podmet vykazujú odlišné materiálové vlastnosti už pri malej zmene fyzikálnych alebo chemických podmienok prostredia. Táto jedinečná vlastnosť je využívaná pri transporte proteínov, peptidov alebo menších organických molekúl. V práci²³ vyvinuli redoxne-aktívny gél s použitím polyónových komplexov, ktoré umožňujú uvoľňovať nabité liečivá vplyvom zvýšenia teploty a iónovej sily. Podobne v štúdiu²⁴ sa zamerali na prípravu magnetických a pH citlivých materiálov s použitím κ -karagénanu a karboxymetyl(chitosanu), ktoré poskytli perspektívne vyhlídky na distribúciu liečiv v závislosti na rozdielnom pH.

Polyméry s tvarovou pamäťou majú schopnosť prechádzať z dočasného do trvalého tvaru vplyvom vonkajších stimulov, ktoré môžu byť indukované tepelne, magneticky, elektricky alebo elektromagneticky v závislosti od požadovanej aplikácie polymérnych nanokompozitov. Tvarové pamäťové polyméry sa vo veľkej miere používajú pri vývoji podporných skafoldov a uvoľňovaní terapeutických činidiel a liečiv. Liu a spol.²⁵ vyvinuli pamäťové polyméry citlivé na teplo a vodné prostredie s použitím celulózových nanokryštálov s poly(ϵ -kapolaktónom) a poly(etylénglykolom). Tieto polymérne nanokompozity vykazovali lepšie mechanické vlastnosti a zvýšenú cyto-kompatibilitu. Jednou z najvýraznejších výhod polymérov s tvarovou pamäťou je ich schopnosť použitia v neinvazívnej chirurgii. Mechanizmus spočíva v navrhnutí polymérov do tvaru, ktorý zapadne do malých rezov a po zavedení do tela dosiahne svoj funkčný tvar. Na princípe tohto mechanizmu bol založený nový typ kompozitu, ktorý bol schopný distribuovať rastové faktory v organizme so zmenou tvaru polyméru. Pripravené nanokompozitívny poly(ϵ -kapolaktónu) a hydroxyapatitu vykazovali nielen vynikajúcu mechanickú a znateľnú obnovu tvarovej pamäte, ale boli tiež schopné indukovať rast novej mandibulárnej kosti v mieste poškodenia²⁶.

2.2. Poly(etylnaftalát)

V posledných rokoch zaznamenal vývoj termoplastických polyesterov s naftalénovým jadrom v štruktúre značný progres. Poly(etylnaftalát) (PEN), poly(propylénaftalát) (PPN) a poly(butylénaftalát) (PBN) sú najznámejšími členmi tejto skupiny termoplastov. Poly(etyln-2,6-naftaléndikarboxylát), poly(etyln-2,6-naftalát), poly(etylnaftalát), v skratke (PEN), je transparentný aromatický polyester, štruktúrne podobný poly(etyltereftalátu) (PET), s rozdielom náhrady benzénového jadra v PET objemnejším naftalénom, ktorý je tvorený dvoma kondenzovanými benzénovými jadrami.

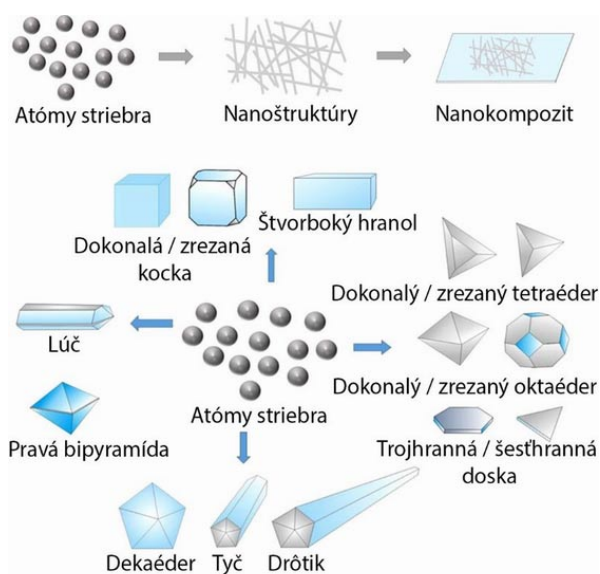
Prítomnosť naftalátovej skupiny v hlavnom reťazci zvyšuje mechanické a tepelné vlastnosti, odolnosť voči väčšine zriedených kyselín a organických rozpúšťadiel a taktiež znižuje priepustnosť pre plyny. Preto PEN nachádza využitie v priemyselných aplikáciách v podobe magnetických pásov, obalových materiálov pre potraviny či flexibilných plošných spojov. Vnútna pevnosť a rozmerová stabilita predurčuje bežné spracovanie PEN na vlákna a fólie, kde je potrebné docieľiť minimálnych zmien rozmerov počas zmrštenia a predĺženia materiálu²⁷. PEN má teplotu topenia $T_m \sim 250\text{--}290\text{ }^\circ\text{C}$ a vysokú teplotu skleneného prechodu $T_g \sim 120\text{ }^\circ\text{C}$, čo umožňuje jeho použitie v aplikáciách pri teplotách oveľa vyšších ako u poly(etyltereftalátu). Tepelné správanie PEN bolo prvýkrát pozorované Chengom a Wunderlichem²⁸.

PEN vykazuje pomerne dobrú optickú čistotu a absorpciu ultrafialového žiarenia²⁹. S vysokou hodnotou optickej transmitancie a odolnosťou voči UV žiareniu sú PEN substráty obzvlášť užitočné pre biomedicínske aplikácie ako transparentné konštrukčné materiály. Biokompatibilita a inherentná hydrofilita povrchu polyméru, ktorá je zachovaná aj po mikro- či nanofabrikácii predurčuje PEN k bezpečnému použitiu v podobe štruktúrovaného materiálu pre kultivačné experimenty.

Podľa štúdie³⁰ bol PEN substrát schopný replikovať štruktúry s rozmermi v rozmedzí od desiatok mikrometrov až po stovky nanometrov počas skúšobného obdobia niekoľkých mesiacov. PEN predstavuje potenciálny materiál na výrobu systémov obsahujúcich mikro a nanoštruktúry, so súčasným zachovaním štruktúrnej stability pri sterilizačných teplotách. Replikácia nanoštruktúr na povrchu polymérneho substrátu bola demonštrovaná taktiež v práci³¹, kde boli pomocou KrF excimerového lasera na PEN povrchu pripravené pravidelné periodické nanoštruktúry s vlastnosťami závislými na počte aplikovaných laserových impulzov.

2.3. Strieborné nanodrátky na biokompatibilných polyméroch

Nanodrátky striebra (AgNWs) predstavujú jednorozmerné strieborné nanoštruktúry, ktoré nachádzajú potencionálne využitie predovšetkým v optoelektronickom priemysle³². Príklady bežných strieborných nanoštruktúr sú ilustrované na obr. 2. Vďaka vysokej elektrickej vodi-



Obr. 2. Príklady strieborných nanoštruktúr s rôznymi tvarmi³⁶

vosti a optickej priepustnosti sú siete vytvorené zo strieborných nanodrôtkov, používané v solárnych článkoch, dotkových obrazovkách či svetlo emitujúcich diódach vo forme flexibilných transparentných elektród^{33–35}.

AgNWs zaujali postavenie taktiež v oblasti regeneratívnej medicíny ako súčasť perspektívnych bioimplanátov tzv. elektroaktívnych biomateriálov. Väčšina bežných elektród a vodivých skafoldov pre regeneráciu tkanív pozostáva zo syntetických materiálov, ktoré vykazujú obmedzenú biologickú kompatibilitu s okolitým tkanivom. Inkorporáciou kovových NWs do polymérnych substrátov je možné pripraviť alternatívne vodivé materiály, ktoré vykazujú mechanické a štruktúrne vlastnosti podobné mäkkým tkanivám. Výhodou kovových elektroaktívnych biomateriálov je taktiež možnosť regenerácie poškodeného tkaniva bez nutnosti použitia elektrickej stimulácie. Do tejto skupiny materiálov sa radia bioelektródy, ktoré sú využívané pri mozgovej stimulácii, v neutrálnych prúdoch a kardiostimulátoroch. K ďalším významným materiálom patria biomimetické skafoldy stimulujúce bunkovú elektrolýzu a podporujúce elektrickú väzbu medzi bunkami pri regenerácii nervového tkaniva a hojení rán v tkanivom inžinierstve.

Pri výbere polymérneho substrátu určeného pre implantáciu je prednostne dôležité zvážiť riziko vzniku bakteriálnej infekcie v tele pacienta. Nanobiomateriály s impregnovanými AgNWs sú vhodnou alternatívou biomimetických skafoldov, ktoré pôsobia antimikrobiálne v požadovanom mieste účinku a splňujú tak funkciu materiálov všestranne využiteľných v medicíne.

Štúdia³⁷ odkazuje na vývoj perspektívneho biomimetického nanokompozitného materiálu s pridanou hodnotou trvalých antimikrobiálnych vlastností. Výsledný nanokom-

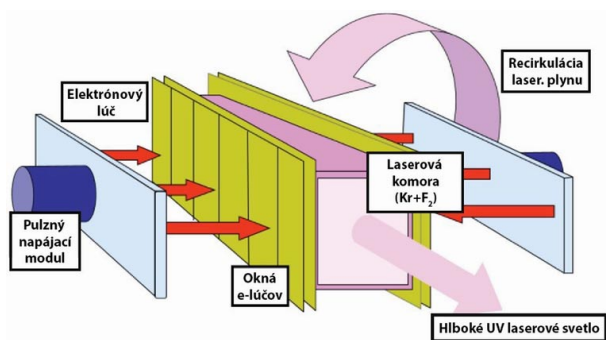
pozit pripravený z biokompatibilných kolagénových vlákien typu I a strieborných nanodrôtkov dosahoval vysoké hodnoty mobility nosičov náboja a elektrickej kapacity so zachovaním mechanických vlastností mäkkých spojivových tkanív. Na kolagénovom/AgNWs kompozite bola taktiež preukázaná proliferácia embryonálnych kuracích kardiomyocytov a antimikrobiálna aktivita voči Gram-negatívnym baktériám *E. coli* a Gram-positívnym baktériám *S. epidermidis*.

3. Príprava nanoštrukturovaných biokompatibilných polymérnych povrchov

Väčšina polymérnych materiálov môže byť relatívne ľahko tvarovaná do rôznych štruktúr od jednoduchých fólií až po komplexne zložitejšie tvary. Polyméry ponúkajú široké spektrum vlastností vďaka značnej rozmanitosti chemického zloženia, čím si zaslúžili miesto potenciálnych kandidátov pre biomedicínske aplikácie. Len veľmi zriedkavo sa používajú v nemodifikovanom stave a na dosiahnutie požadovaných vlastností je potrebný určitý druh povrchovej úpravy. Aplikovaním vhodnej metódy modifikácie možno zmeniť morfológiu, fyzikálno-chemické vlastnosti či drsnosť povrchu polyméru spôsobom, ktorý môže zvýšiť jeho adhéziu k zlúčeninám v biologických systémoch a podporiť tak biokompatibilitu alebo antibakteriálne vlastnosti modifikovaného povrchu. Medzi časté metódy modifikácie povrchu polyméru patria laserová a plazmová modifikácia, iónová implementácia, leptanie, grafítizácia a iónové rozprašovanie. Akýkoľvek druh povrchovej modifikácie vedie k zmene povrchovej topológie a morfológie, ktorá výrazne ovplyvní optické, mechanické, adhézne, elektrické a ďalšie vlastnosti modifikovaného substrátu. Takéto zmeny by sa mali vyskytovať len v malej hĺbke od povrchu substrátu, pričom väčšina modifikovaného polyméru a jeho vlastností by mala zostať nezmenená.

3.1. Tvorba periodických nanoštruktúr excimerovým laserom

K príprave nanoštruktúr na povrchu polymérnych substrátov sa bežne využívajú litografické techniky. Vhodnou alternatívou vytvorenia organizovaných štruktúr bez použitia masky a fotorezistu je priama expozícia vzoriek voči polarizovanému laserovému žiareniu (schéma vid' obr. 3). Metóda laserového nanoobrábania sa používa pri výrobe polymérnych elektronických pamätí, polovodičov a flexibilných polymérnych substrátov s izolačnou vrstvou pre tranzistory v mikroelektronike. Nanoobrábanie polymérneho povrchu možno využiť na vytvorenie biokompatibilných polymérnych substrátov, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu pri adhézii, proliferácii a migrácii kultivovaných buniek v biomedicíne. Povrchová expozícia polyméru laserom taktiež významne ovplyvňuje adhéziu deponovaných kovových nanovrstiev využiteľných pre konštrukciu senzorov, zosilovačov, fotovoltaiických súčiastok či polymérnych displejov³⁸.

Obr. 3. Schéma KrF excimerového laseru⁴²

Za určitých podmienok môže pri modifikácii povrchu polyméru koherentným žiarením dôjsť k vytvoreniu laserom indukovaných periodických povrchových štruktúr (LIPSS) tzv. „vlniek“ (z angl. ripples)³⁹. Mechanizmus interakcie laserového zväzku s materiálom je komplexný a veľmi zložitý proces. Princíp vytvárania vlniek spočíva v absorpcii a interferencii dopadajúceho laserového žiarenia a rozptýlených vln na polymérnom povrchu, pričom dochádza k postupnej ablácii polyméru, a teda deštrukcii väzieb fotochemickou cestou⁴⁰. Periodické nanoštruktúry nadobúdajú rôzny tvar a veľkosť (obr. 4), v závislosti od vlnovej dĺžky primárneho laserového žiarenia a uhla dopadu použitého laseru. Periodicitu pripravených nanoštruktúr možno kvantifikovať vzťahom (1):

$$\Lambda = \frac{\lambda}{n - \sin \theta} \quad (1)$$

kde Λ reprezentuje šírku pripravených nanoštruktúr, λ vlnovú dĺžku použitého laseru, n efektívny index lomu použitého polymérneho materiálu a θ je uhol, pod ktorým laserové žiarenie dopadá na povrch polyméru.

Periodické nanoštruktúry, vytvorené na povrchu substrátu, môžu byť bežne indukované ožiaraním prostrednic-

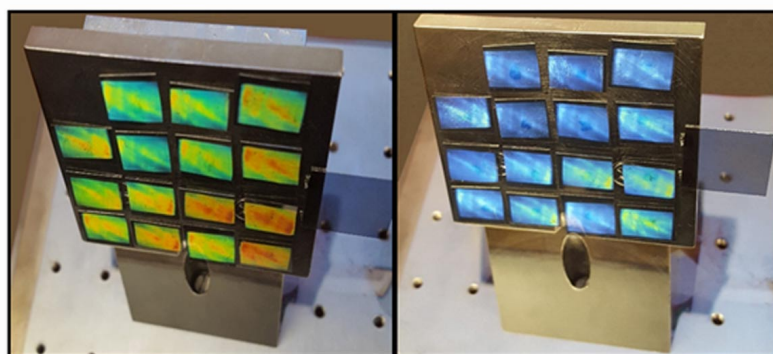
tvom femtosekundových (fs) alebo pulzných UV laserov. Pri fs laserovom žiarení sa tvorba vlniek na polymérnych povrchoch môže pozorovať pri laserovom toku nad ablačnou prahovou hodnotou už pri malom počte laserových impulzov, s dĺžkami impulzov rádovo niekoľko nanosekúnd. Periodicita týchto nanoštruktúr je podstatne menšia v porovnaní s vlnovou dĺžkou primárneho žiarenia. Uvádzajú sa pod označením nanoštruktúry s vysokou priestorovou frekvenciou (HSFL). Naopak pulzné UV lasere využívajú veľký počet laserových impulzov N , pri laserových tokoch tesne pod ablačným prahom. Po expozícii polyméru lineárne polarizovaným laserovým žiarením sa periodicitu LIPSS blíži vlnovej dĺžke žiarenia λ a tieto typy vlniek sa sumárne označujú ako nanoštruktúry s nízkou priestorovou frekvenciou (LSFL)⁴¹.

K často využívaným pulzným UV laserom sa zaraďujú plynové excimerové lasere, emitujúce žiarenie v oblasti s vlnovou dĺžkou 126–660 nm. Termín excimer je skrátená forma tzv. excitovaného diméru a jedná sa o molekulu tvorenú dvomi identickými atómami vzácneho plynu. K vzniku excimerových molekúl dochádza pri zrážkach atómov plynu s elektrónmi o vysokej energii (pri elektrickom výboji), ktoré sa vzájomne spájajú len v excitovanom stave a pri návrate do základného stavu sa rozpadnú na jednotlivé atómy a vyžiaria elektromagnetické žiarenie.

Excimer bol neskôr rozšírený o všetky kombinácie vzácnych plynov a halidov. Medzi najčastejšie používané médiá excimerových laserov patria fluorid kryptónu (KrF, $\lambda = 248$ nm), fluorid argónu (ArF, $\lambda = 193$ nm) chlorid xenónu (XeCl, $\lambda = 308$ nm) a fluorid (F_2 , $\lambda = 157$ nm). Excimerový laser sa bežne skladá z troch hlavných zložiek: laserová trubica, pulzný nabíjací modul a rezonátor. Schéma laseru je znázornená na obr. 3.

3.2. Príprava tenkých vrstiev vákuovým naparovaním

O tenkej vrstve môžeme hovoriť, ak sa jedná o materiál definovaný v rozmedzí veľkostí od niekoľkých desiatok nanometrov až po niekoľko mikrometrov. Nanokompozitné tenké vrstvy môžu nájsť uplatnenie najmä vo



Obr. 4. PEN vzorky modifikované KrF laserovým lúčom pri uhle 45° s deponovaným striebrom (20 nm) vo forme Ag nanodrôtkov. Fotené pod rôznymi uhlami dopadu svetla. Farebne dostupný v on-line podobe

fotovoltaike, optike, pri výrobe senzorov alebo v biomedicínskych aplikáciách. Jedná sa o amorfné, polykryštalické alebo monokryštalické štruktúry, ktoré sú vytvárané cieľovým nanášaním materiálov na kovový, keramický, skelný alebo polymérny substrát najčastejšie dvoma základnými metódami: fyzikálnymi (PVD – z angl. Physical vapour deposition) alebo chemickými (CVD – z angl. Chemical vapour deposition). Na úpravu morfológie vytvorených tenkých vrstiev sa využívajú maskové litografické techniky. Špeciálny prípad prípravy monokryštalických nanovrstiev na monokryštalickom substráte zahŕňa epitaxné technológie s prekuzorom v plynnej, kvapalnej alebo pevnej fáze.

Podstatou CVD metód je transport prchavých chemických zlúčenín (prekuzorov) pomocou nosného plynu k substrátu, kde sa väčšinou termicky rozkladajú. V prípade PVD metód ide o depozíciu materiálu (pomocou naparovania, katódového naprašovania, laserovej ablácie, výbojom apod.) bez jeho chemických zmien⁴³.

K hojne využívaným PVD technikám prípravy tenkých kovových vrstiev patrí vákuové naparovanie. Naparovací priestor (recipient) obsahuje výparník, obvykle v tvare lodičky, tvorený vysokotavitelným kovom, v ktorom je umiestnený odparovaný kov a držiak substrátu v definovanej vzdialenosti od výparníku. Medzi substrátom a výparníkom môže byť umiestnené čidlo, vyhodnocujúce hrúbku naparenej vrstvy, a clona slúžiaca k zachyteniu prvej dávky par, ktoré bývajú znečistené oxidom, nachádzajúcim sa na povrchu odparovaného materiálu. Výparník, v ktorom dochádza k odparovaniu kovu, je najčastejšie ohrievaný prechodom elektrického prúdu, v špeciálnych prípadoch taktiež ohrevom iónovým lúčom, či vysokofrekvenčným ohrevom. Pokiaľ teplota odparovaného kovu vzrastie nad predpísanú hranicu, zvýši sa kinetická energia v povrchovej vrstve natoľko, že sa z nej začnú uvoľňovať atómy, prípadne molekuly odparovanej látky. V tomto prípade sa na substrát, ktorý má nižšiu teplotu než odparovaný materiál, postupne nanáša kov a vznikajú ostrovčeky, až kým sa nevytvorí kompaktná vrstva. Počas naparovania je potrebné udržiavať dráhu odparených častíc tak, aby bola priamočiara a stredná voľná dráha čo najdlhšia, pretože pri krátkej strednej voľnej dráhe by sa častice zrazili s molekulami vzduchu, zmenili smer a nedorazili by na požadované miesto. Stredná voľná dráha odparovaných častíc je predlžovaná nižšou hodnotou vákuua, a preto celý proces naparovania obvykle prebieha v rozmedzí hodnôt tlaku 10^{-4} až 10^{-6} Pa. Čím viac rastú požiadavky na presnosť a čistotu tenkej vrstvy, tým viac rastú aj náklady na zabezpečenie hlbšieho vákuua a na čistotu vnútorných priestorov recipientu.

Proces depozície tenkých vrstiev je závislý na voľbe použitého substrátu, ktorý značne ovplyvňuje chovanie celého systému tenká vrstva-substrát v pracovných podmienkach. Ak má tento systém spĺňať požadované kritériá, musia obidve časti disponovať danými mechanickými, chemickými a technologickými vlastnosťami. Stav rozhrania je jednou z určujúcich podmienok pre vysokú odolnosť tenkých vrstiev, pretože ovplyvňuje adhéziu k substrátu.

Medzi najjednoduchšie a najrozšírenejšie metódy, sledujúce kvalitu a vlastnosti tenkých vrstiev, patrí vrypová skúška (angl. „Scratch test“). Princíp metódy spočíva vo vytvorení vrypovej stopy na vrstve pomocou meracieho diamantového hrotu zaťaženého silou, pri rovnomernom priamočiaram pohybe vzorky.

Pri skúške sa posudzuje vzniknuté porušenie systému vrstva-substrát najčastejšie mikroskopiou atomárnych síl (AFM). Najmenšie zaťaženie, pri ktorom môže dôjsť k porušeniu, sa nazýva kritické zaťaženie. Hodnota kritického zaťaženia pre daný povlak je mierou jeho adhézie k substrátu. Táto metóda našla svoje uplatnenie v podobe efektívneho indikátora kvalitatívnej kontroly v priemyslových i vedeckých oblastiach.

4. Antibakteriálna aktivita strieborných nanoštruktúr

Biologický osud Ag nanoštruktúr v živých systémoch, spojený s agregáciou, rozpúšťaním či interakciami s biomakromolekulami, závisí predovšetkým na morfológii, náboji, koncentrácii, prítomnosti povrchovo-aktívnych látok, spôsobu a podmienkach ich prípravy. Aktivita nanoštruktúr je teda značne variabilná v rámci rozsahu funkcionalizácie povrchu a ich stabilita v kapalných mediách je ovplyvnená zložením, iónovou silou, pH a teplotou príslušného média. Naopak u nanoštruktúr, pripravených na pevných biokompatibilných substrátoch, zohrávajú podstatnú úlohu povrchové vlastnosti materiálu, ako sú povrchová energia, morfológia, drsnosť, náboj, chemické zloženie a zmáčavosť. Je dôležité poznamenať, že pri interakciách Ag nanoštruktúr s mikroorganizmami je rozhodujúca veľkosť špecifickej plochy a jej zvýšenie môže výrazne prispieť k inhibícii bakteriálnych kolónii⁴⁴. Stanovenie presného antibakteriálneho mechanizmu Ag nanoštruktúr je veľmi obtiažne a princíp bežne spočíva v jeho priamom účinku, alebo ho možno vysvetliť na príklade uvoľňovania Ag^+ iónov z povrchu nanoštruktúr. Antibakteriálny účinok môže pochádzať taktiež z kombinácie oboch mechanizmov, napr. pri adsorbácii na biomolekuly či bunkové membrány a pri vzájomných interakciách s biologickými receptormi, ktoré predchádzajú vzniku subcelulárnych miest s vyššou koncentráciou rozpustených Ag^+ . Špeciálnym prípadom odozvy biologického systému na prítomnosť Ag nanoštruktúr je tvorba reaktívnych kyslíkových radikálov (ROS) v procese oxidačného stresu. Keďže vo väčšine literárnych zdrojov je antimikrobiálny mechanizmus popísaný práve na príklade strieborných nanočastíc, nasledujúce kapitoly budú venované účinku nanostriebrá. Avšak princíp antimikrobiálneho účinku nanočastíc je viac menej porovnateľný s ostatnými Ag nanoštruktúrami.

4.1. Priamy antibakteriálny účinok nanostriebrá

Antimikrobiálna aktivita AgNPs je spojená s tromi dobre definovanými mechanizmami:

- adhézia AgNPs na povrch bunkovej steny alebo membrány,
- penetrácia AgNPs do bunky a následné poškodenie intracelulárnych štruktúr (mitochondrie, vakuoly, ribozómy) a biomolekúl (proteín, lipidy a DNA),
- modulácia signálnych transdukčných ciest (zmena procesu premeny extracelulárneho signálu na bunkovú odpoveď).

Okrem týchto procesov AgNPs modulujú imunitný systém ľudských buniek tým, že organizujú zápalovú odpoveď, ktorá ďalej pomáha pri inhibícii mikroorganizmov.

Rozhodujúcim parametrom pri adhézii nanostriebra k bunke je prítomnosť pozitívneho náboja na povrchu nanočastic⁴⁵. Kladne nabitý povrch nanostriebra môže byť elektrostaticky priťahovaný k negatívne nabitej bunkovej stene alebo membráne baktérií a zaisťuje tým permanentné pripojenie nanočastic na povrchu bunky počas dlhšieho obdobia. Počas adhézie nanostriebra k povrchu bunky sa morfológické zmeny prejavujú v podobe zmrštenia cytoplazmy a oddelenia membrány, pričom vedú ku konečnému prasknutiu bunkovej steny. Na bunkách *E. coli* boli zaznamenané viditeľné zmeny pri narušení membrány už po niekoľkých minútach kontaktu s AgNPs (cit.^{14,46}). AgNPs môžu taktiež interagovať s proteínmi, ktoré obsahujú v bunkovej stene síru a ireverzibilne zmeniť ich štruktúru^{14,47}.

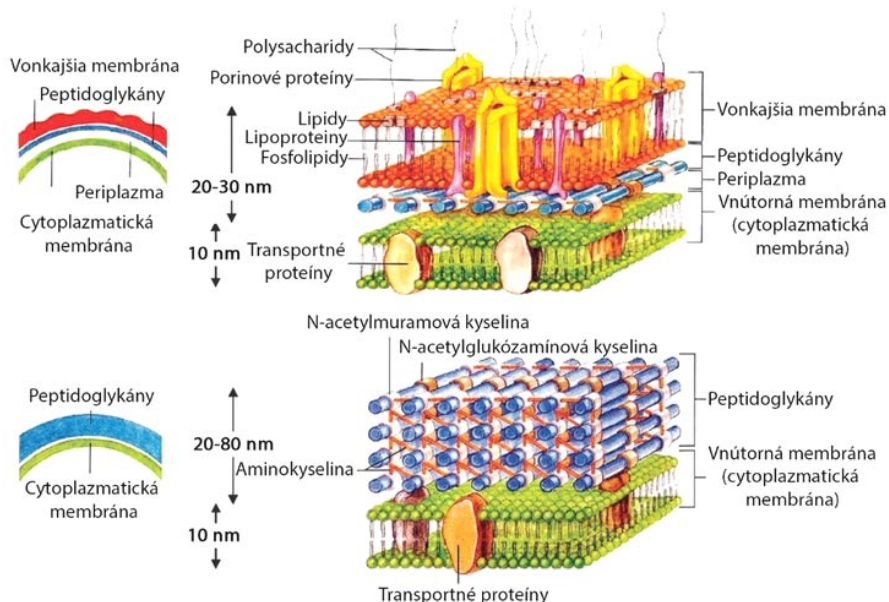
Akékoľvek zmeny v morfológii bunkovej steny ovplyvňujú integritu lipidovej dvojvrstvy a permeabilitu cytoplazmatickej membrány. Tieto kroky vedú k zvýšeniu priepustnosti membrány, čo ovplyvňuje schopnosť buniek správne regulovať transportnú aktivitu esenciálnych iónov a molekúl prostredníctvom plazmatickej membrány. Popri

ovplyvňovaní aktívneho a pasívneho transportu môže zvýšenie permeability viesť k nekontrolovanému úniku bunkového obsahu, vrátane iónov, proteínov, redukujúcich cukrov a taktiež bunkovej energetickej zásoby ATP (cit.⁴⁸).

Je dôležité poznamenať, že adhézivitu AgNPs značne ovplyvňuje hrúbka a zloženie bunkovej steny baktérií. Rozdiel medzi zložením bunkovej steny Gram-pozitívnych a Gram-negatívnych baktérií je znázornený na obr. 5. Mechanizmus interakcie medzi AgNPs a zložkami vonkajšej membrány *E. coli* je bohužiaľ stále nevyriešený. Niektoré štúdie uvádzajú, že Gram-negatívne baktérie *E. coli* sú menej rezistentné voči účinku AgNPs než gram-pozitívne baktérie *S. aureus*, čo je spôsobené rozdielom v organizácii kľúčovej zložky bunkovej steny peptidoglykán.

V Gram-pozitívnych baktériách sa bunková stena skladá zo záporne nabitej vrstvy peptidoglykánov, ktorých množstvo výrazne prevažuje nad množstvom peptidoglykánov v bunkovej stene Gram-negatívnych baktérií. Podľa Rai a spol.⁴⁹ súvisí vyššia rezistivita Gram-pozitívnych baktérií voči AgNPs práve s hrubšou bunkovou stenou. Gram-negatívne baktérie taktiež obsahujú v bunkovej membráne negatívne nabitú lipopolysacharidy (LPS), ktoré môžu podporovať adhéziu AgNPs s kladným nábojom na povrchu bunky a vytvárajú tak prostredie náchylnejšie na antimikrobiálnu aktivitu nanostriebra⁵⁰. Naopak v štúdiách^{51,52} bola vyššia rezistivita Gram-negatívnych baktérií *E. coli* spojená práve s odolnejšou vonkajšou membránou buniek, tvorenou tesne priliehajúcimi molekulami LPS, ktoré vytvárajú účinnú permeabilnú bariéru.

Po adhézii na bunkovú stenu alebo membránu môžu AgNPs preniknúť do buniek a ovplyvniť životne dôležité

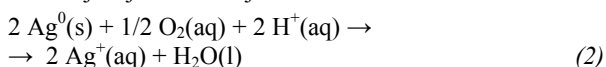


Obr. 5. Zloženie bunkových štruktúr Gram-pozitívnych (dole) a Gram-negatívnych baktérií⁷⁶

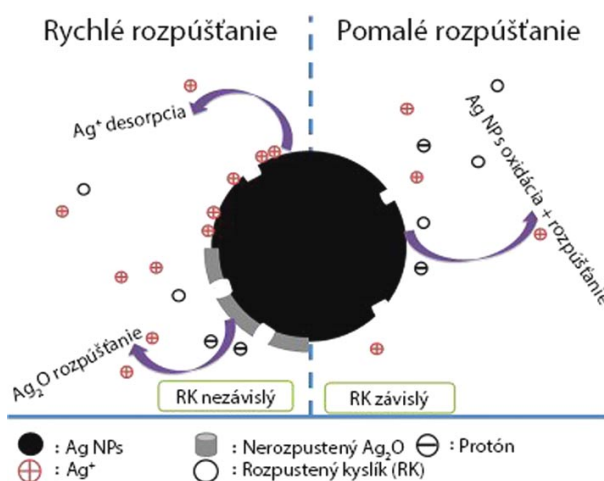
funkcie bunkových organel. AgNPs nachádzajúce sa vo vnútri bunky majú taktiež tendenciu reagovať s proteínmi obsahujúcimi síru, ako aj so zlúčeninami obsahujúcimi fosfor, ako je DNA. Interakcie AgNPs s DNA môžu spôsobiť mutácie v základných korekčných génoch DNA (cit.⁵³), denaturáciu DNA a prerušiť bunkový cyklus delenia⁵⁴. Interkalácie AgNPs v DNA helixe taktiež môžu blokovat' transkripciu génov v mikroorganizmoch⁵⁵. Všetky spomínané interakcie nanostriebra s bunkovými štruktúrami a biomolekulami najčastejšie vedú ku konečnej apoptóze bunky.

4.2. Mechanizmus uvoľňovania Ag⁺ iónov a ich baktericídny účinok

V kvapalných médiách môže Ag nadobudnúť rôzne oxidačné stavy: Ag⁰, Ag⁺, Ag²⁺ a Ag³⁺. Formy Ag⁰, Ag⁺ patria medzi najrozšírenejšie, zatiaľ čo Ag²⁺ a Ag³⁺ sú vo vodnom prostredí nestabilné⁵⁶. Z chemického hľadiska je pri rozpúšťaní AgNPs v neutrálnom prostredí vyžadovaná prítomnosť protónov a rozpusteného kyslíka (RK). V kyslom prostredí sa AgNPs rozpúšťajú rýchlo a niekedy úplne. Avšak rozpúšťanie AgNPs za alkalických podmienok je problematickejšie, čo naznačuje kritickú úlohu protónov. Za zdroje uvoľňovaného Ag⁺ sú považované samotné nanočastice, ako aj aglomeráty/agregáty. Rozpúšťanie AgNPs môže prebehnúť v environmentálnom prostredí, biologických médiách a taktiež vo vnútri bunky podľa nasledujúcej všeobecnej rovnice:



Štúdia⁵⁷ poukazuje na rozdelenie procesu rozpúšťania AgNPs do dvoch rôznych etáp. V závislosti na tom, ktorá z etáp rozpúšťania prevláda, možno predpovedať mieru uvoľňovania Ag⁺ iónov v médiách. Prvá fáza predstavuje rýchly rozpúšťací proces popísaný kinetikou prvého poriadku. Tento jav je sprevádzaný rýchlym rozpúšťaním vytvorenej oxidačnej vrstvy Ag₂O a desorpciou Ag⁺ iónov na povrchu AgNPs. Kinetika procesu nezávisí na koncentrácii rozpusteného kyslíka v médiu, avšak stále súvisí s protónovou výmenou. Druhá fáza sa vyznačuje tzv. „nulovou reakčnou rýchlosťou“ (minimálne uvoľňovanie strieborných iónov). V tejto etape je rozhodujúcim faktorom proces oxidácie povrchu nanostriebra za vzniku tzv. core(AgNPs)-shell(Ag₂O) štruktúry. Povrchová oxidácia výrazne závisí na množstve prítomného kyslíka a pri určitej koncentrácii nemusí vôbec dochádzať k vytvoreniu Ag₂O vrstvy a následnému rozpúšťaniu. Pokiaľ by došlo k vytvoreniu Ag₂O vrstvy, rýchlosť rozpúšťania môže byť aj naďalej zanedbateľná a to práve vďaka samotnej Ag₂O vrstve, ktorá môže chrániť povrch nanostriebra pred ďalšou oxidáciou alebo naopak rozpúšťaním. Ďalší dôvod pomalého rozpúšťania možno pripísať spätnej adsorpcii Ag⁺ iónov na povrch AgNPs, ktorá môže obmedziť vzájomnú difuzivitu O₂ a protónov⁵⁸. Schéma zobrazujúca etapy pomalého a rýchleho rozpúšťania je ilustrovaná na obr. 6.



Obr. 6. Mechanizmus rozpúšťania AgNP v dvoch štádiách: rýchle rozpúšťanie (naľavo) a pomalé rozpúšťanie (napravo) (cit.⁵⁷)

Kinetiku uvoľňovania Ag⁺ iónov výrazne ovplyvňuje veľkosť a koncentrácia AgNPs. Ma a spol.⁵⁹ zistili, že hodnoty rýchlosti rozpúšťania AgNPs sa pohybovali v rozmedzí od 1 % pre veľké častice (80 nm) až po 60 % pre najmenšie častice (5 nm). Taktiež pri vysokej koncentrácii AgNPs (10 mg l⁻¹) pozorovali nižšiu rýchlosť rozpúšťania Ag⁺ (<10 %) v porovnaní s nízkou koncentráciou AgNPs (1 mg l⁻¹) počas 48 h (cit.⁶⁰). Uvoľňovanie Ag⁺ je značne závislé od povrchu AgNPs. Pri vysokých koncentraciách alebo pri väčších AgNPs pozorujeme zníženú tvorbu Ag⁺ iónov z dôvodu menšieho špecifického povrchu⁶¹.

Je pomerne zložitá predpovedať chemickú kompozíciu AgNPs suspenzií, pokiaľ nie je možné dosiahnuť biologickú rovnováhu systému. Aktivita Ag⁺ iónov značne závisí od koncentrácie zlúčenín obsahujúcich S a S ióny (S²⁻ a SH), koncentracii rozpusteného O₂ a Cl⁻, prítomnosti biologických makromolekúl (DNA a proteínov) a iných organických zlúčenín so silnou afinitou k Ag⁺ a Ag⁰. Aby bolo možné stanoviť relatívnu toxicitu Ag⁺ vzhľadom k AgNPs, je nevyhnutné presne kvantifikovať podmienky študovaného média. Vzhľadom na mechanizmus toxicity, súvisiaci s oxidačným rozpúšťaním, môžu uvoľnené ióny Ag⁺ výrazne zvýšiť toxikologickú odpoveď AgNPs v organizme. Dôležitou skutočnosťou pri skúmaní antimikrobiálnych vlastností nanostriebra je prítomnosť negatívneho náboja na povrchu baktérií so silnou afinitou k Ag⁺. Katióny Ag⁺ sa môžu pomerne ľahko adsorbovať na bakteriálnych membránach a spôsobiť závažnejšiu toxikologickú reakciu. U Gram-negatívnych baktérií môžu Ag⁺ ióny prenikať do vnútra bunky pasívnym transportom pomocou porínových proteínov. Poríny sú proteíny vonkajšej membrány Gram-negatívnych baktérií, ktoré vytvárajú vodné kanály a prostredníctvom ktorých difundujú látky s nízkou molekulovou hmotnosťou, ako napr. Ag⁺ ióny. Tento

predpoklad bol overený v štúdiu⁶², kde expresia mutovaných porínových proteínov v *E. coli* zvýšila rezistenciu voči pôsobiacim AgNPs.

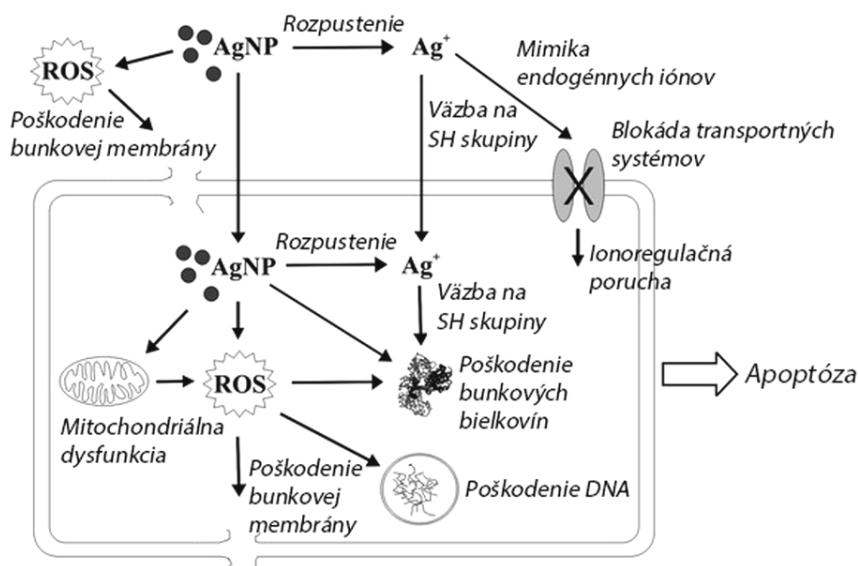
Taktiež Radzig a spol.⁵³ potvrdili, že mutantné kmene *E. coli* s deficitom OmpF alebo OmpC porínov boli 4 až 8krát viac rezistentné voči AgNPs v porovnaní s pôvodným kmeňmi, čo naznačuje, že poriny zohrávajú kľúčovú úlohu pri antibakteriálnom účinku uvoľnených Ag^+ . Podľa Samberg a spol.⁶³ možno antibakteriálnu aktivitu strieborných iónov pripísať synergickému účinku, ktorý je spojený s adsorpciou strieborných iónov na bunkovú stenu alebo membránu, prenikom iónov do bunky, akumuláciou v bunke a ich zásahom do kritických biomolekúl v bunke. Podľa Wonga a Liu.⁶⁴ Ag^+ ióny interagujú so zlúčeninami obsahujúcimi fosfor (napr. DNA).

Ag^+ ióny môžu vytvárať komplexy s nukleovými kyselinami, kde preferenčne interagujú s nukleozidmi, avšak nie s fosfátovou skupinou (PO_4^{2-}), a interkalujú medzi párami purínových a pyrimidínových báz, narušujú H-väzby medzi antiparalelnými DNA reťazcami, a tým narušujú dvojité helikálnu štruktúru⁶⁵. Strieborné ióny sú taktiež schopné napodobiť endogénne ióny ako Ca^{2+} , K^+ a Na^+ , čo môže viesť k ionoregulačným poruchám⁶⁶.

Napriek tomu, že sa pri požadovaných biomedicínskych aplikáciách testovali rôzne kovové nanoštruktúry, najlepšie výsledky, čo sa týka najmä antibakteriálnych účinkov, boli zaznamenané práve u strieborných nanomateriálov^{67–74}.

4.3. Oxidačný stres

Podľa niektorých štúdií môže byť antibakteriálna aktivita AgNPs spojená so zvýšenou produkciou reaktívnych kyslíkových radikálov (ROS), ako sú peroxid vodíka (H_2O_2), superoxidový anión ($\text{O}_2^{\bullet-}$), hydroxylový zvyšok ($\bullet\text{OH}$) a singletový kyslík v procese oxidačného stresu. Cytotoxický účinok spôsobený nadmernou produkciou ROS je znázornený na obr. 7. V živých systémoch sa ROS tvoria ako prirodzený vedľajší produkt normálneho bunkového metabolizmu a majú dôležitú úlohu pri bunkovej signalizácii a homeostáze. Molekulárny kyslík generuje H_2O_2 a $\text{O}_2^{\bullet-}$ prostredníctvom jednoelektrónovej redukcie, ktorá je katalyzovaná oxidázou nikotínamidadenindinukleotid fosfátom (NADP). Prostredníctvom enzymaticky riadenej dismutácie radikálov $\text{O}_2^{\bullet-}$ môže opäť vzniknúť H_2O_2 a poslúžiť ako substrát pri reakcii so železnými iónmi (Fe^{2+}) vo Fentonovej reakcii za produkcie reaktívnych radikálov $\bullet\text{OH}$ (cit.⁷⁷). Glutatión (GSH), tripeptid obsahujúci tiolovú skupinu, hrá dôležitú úlohu pri udržiavaní intracelulárneho a intercelulárneho redukčného prostredia a boji proti oxidačnému stresu v mnohých organizmoch, vrátane Gram-pozitívnych a Gram-negatívnych baktérií. Existuje prevažne vo vysokých hladinách v redukovanej forme a funguje na princípe zachytávania ROS za vzniku oxidovanej formy glutatión disulfidu (GSSG), čím udržiava rovnováhu v bunkovom prostredí a chráni bunky pred oxidačným stresom. GSH sa môže regenerovať z GSSG v prítomnosti NADP, pomocou enzýmu glutatiónreduktázy a vyprodukovať 2 redukované GSH molekuly.



Obr. 7. Cytotoxicita AgNPs a Ag^+ vo vzťahu na zvýšenú produkciu ROS (cit.⁷⁶)

Nadmernú generáciu ROS môžu vyvolať samotné AgNPs, ako aj Ag^+ ióny. V niektorých štúdiách boli počas oxidačného rozpúšťania AgNPs detegované superoxidové medzi produkty. Napr. Liu a Hurt⁷⁸ zistili, že AgNPs vo vodnom roztoku nasýtenom vzduchom produkovali počas oxidácie H_2O_2 . Podľa Di He a spol.⁷⁹ dochádzalo pri rozpúšťaní AgNPs v prostredí s rozpusteným kyslíkom k tvorbe $\text{O}_2^{\cdot-}$. Na druhej strane môže zvýšená produkcia ROS súvisieť s prítomnosťou Ag^+ iónov, čo potvrdzuje aj štúdia⁸⁰. Ióny striebra indukovali zvýšenie rýchlosti bunkovej respirácie. Počas tohto procesu bola na bunkách *E. coli* sledovaná generácia intracelulárnych ROS.

5. Záver

V súčasnosti nachádzajú nanokompozitné materiály typu kov-polymér široké uplatnenie v materiálovom inžinierstve a predovšetkým v biomedicíne, vďaka svojim jedinečným vlastnostiam pri interakcii s biologickým prostredím. Tento príspevok pojednáva o nanoštruktúrach toho typu najmä v podobe 0D nanočastíc, 1D nanodrôtikov, 2D tenkých filmov a vrstiev dispergovaných v alebo deponovaných na povrchoch modifikovaných polymérov, s cieľom kategorizovať nové typy materiálov využiteľných v biomedicíne. Najlepšie výsledky, čo sa týka antibakteriálnych účinkov, boli zaznamenané práve u strieborných nanomateriálov. Okrem postupov prípravy rozmanitých kompozitov so zameraním najmä na strieborné nanodrôtky, bol diskutovaný predovšetkým mechanizmus antibakteriálnej aktivity Ag nanomateriálov, a to na princípe priameho účinku ich povrchu s bunkami baktérií alebo pôsobenia Ag^+ iónov, ktoré vznikajú počas rozpúšťania Ag nanoštruktúr.

Autori ďakujú za finančnú podporu Grantové agentúre ČR v projekte 18-07619S.

LITERATÚRA

- Siegel J., Lyutakov O., Polívková M., Staszek M., Hubáček T., Švorčík V.: *Appl. Surf. Sci.* **420**, 661 (2017).
- Švorčík V., Kolská Z., Kvítek O., Siegel J., Řezníčková A., Řezanka P., Záruba K.: *Nanoscale Res. Lett.* **6**, (2011).
- Jordan J., Jacob K. I., Tannenbaum R., Sharaf M. A., Jasiuk I.: *Mater. Sci. Eng., A* **393**, 1 (2005).
- Ma P.-C., Siddiqui N. A., Marom G., Kim J.-K.: *Compos. Part A – Appl. S.* **41**, 1345 (2010).
- Hu K., Kulkarni D. D., Choi I., Tsukruk V. V.: *Prog. Polym. Sci.* **39**, 1934 (2014).
- Marambio-Jones C., Hoek E. M. V.: *J. Nanopart. Res.* **12**, 1531 (2010).
- Polívková M., Štrublová V., Hubáček T., Rimpelová S., Švorčík V., Siegel J.: *Mater. Sci. Eng., C* **72**, 512 (2017).
- Polívková M., Siegel J., Rimpelová S., Hubáček T., Kolská Z., Švorčík V.: *Mater. Sci. Eng., C* **70**, 479 (2017).
- Polívková M., Hubáček T., Staszek M., Švorčík V., Siegel J.: *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 419 (2017).
- Vosmanská V., Kolářová K., Švorčík V.: *Chem. Listy* **111**, 804 (2017).
- Siegel J., Polívková M., Staszek M., Kolářová K., Rimpelová S., Švorčík V.: *Mater. Lett.* **145**, 87 (2015).
- Polívková M., Valová M., Siegel J., Rimpelová S., Hubáček T., Lyutakov O., Švorčík V.: *RSC Adv.* **5**, 73767 (2015).
- Michaljaníčová I., Slepíčka P., Kolská Z., Švorčík V.: *Chem. Listy* **111**, 486 (2017).
- Slepíčka P., Siegel J., Lyutakov O., Slepíčková Kasálková N., Kolská Z., Bačáková L., Švorčík V.: *Biotechnol. Adv.* **36**, 839 (2018).
- Jayakumar R., Menon D., Manzoor K., Nair S. V., Tamura H.: *Carbohydr. Polym.* **82**, 227 (2010).
- Zhao X., Lv L., Pan B., Zhang W., Zhang S., Zhang Q.: *Chem. Eng. J.* **170**, 381 (2011).
- Adewunmi A. A., Ismail S., Sultan A. S.: *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* **26**, 717 (2016).
- Gao W., Zhang Y., Zhang Q., Zhang L.: *Ann. Biomed. Eng.* **44**, 2049 (2016).
- Gaharwar A. K., Peppas N. A., Khademhosseini A.: *Biotechnol. Bioeng.* **111**, 441 (2014).
- Williams K. A., Dreyer D. R., Bielawski C. W.: *MRS Bull.* **33**, 759 (2008).
- Tseng T. C., Tao L., Hsieh F. Y., Wei Y., Chiu I. M., Hsu S. H.: *Adv. Mater.* **27**, 3518 (2015).
- Brochu A. B. W., Matthys O. B., Craig S. L., Reichert W. M.: *J. Biomed. Mater. Res., Part B* **103**, 305 (2015).
- Ishii S., Kaneko J., Nagasaki Y.: *Macromolecules* **48**, 3088 (2015).
- Mandavina G. R., Etemadi H., Soleymani F.: *Carbohydr. Polym.* **128**, 112 (2015).
- Liu Y., Li Y., Yang G., Zheng X., Zhou S.: *ACS Appl. Mater. Interfaces* **7**, 4118 (2015).
- Hoffman A. S.: *Adv. Drug Del. Rev.* **65**, 10 (2013).
- Neděla O., Slepíčka P., Kolská Z., Sajdl P., Švorčík V.: *React. Funct. Polym.* **100**, 44 (2016).
- Cheng S. Z. D., Wunderlich B.: *Macromolecules* **21**, 789 (1988).
- Ouchi I., Nakai I., Kamada M.: *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B* **199**, 270 (2003).
- Mills C. A., Escarré J., Engel E., Martínez E., Errachid A., Bertomeu J., Andreu J., Planell J. A., Samitier J.: *Nanotechnology* **16**, 369 (2005).
- Slepíčka P., Neděla O., Sajdl P., Kolská Z., Švorčík V.: *Appl. Surf. Sci.* **285**, 885 (2013).
- Sun Y.: *Nanoscale* **2**, 1626 (2010).
- Zhu S., Gao Y., Hu B., Li J., Su J., Fan Z., Zhou J.: *Nanotechnology* **24**, 335202 (2013).
- Kalachyova Y., Mareš D., Záruba K., Švorčík V., Lyutakov O.: *J. Phys. Chem. C* **120**, 10569 (2016).
- Yi P., Zhang C., Peng L., Lai X.: *RSC Adv.* **7**, 48835 (2017).

- (2017).
36. Zhang P., Wyman I., Hu J., Lin S., Zhong Z., Tu Y., Huang Z., Wei Y.: *Mater. Sci. Eng., B* 223, 1 (2017).
 37. Wickham A., Vagin M., Khalaf H., Bertazzo S., Hodder P., Danmark S., Bengtsson T., Altimiras J., Aili D.: *Nanoscale* 8, 14146 (2016).
 38. Žvátora P., Řezanka P., Prokopec V., Siegel J., Švorčík V., Král V.: *Nanoscale Res. Lett.* 6, (2011).
 39. Barb R. A., Hrelescu C., Dong L., Heitz J., Siegel J., Slepicka P., Vosmanska V., Svorcik V., Magnus B., Marksteiner R., Schernthaner M., Groschner K.: *Appl. Phys. A* 117, 295 (2014).
 40. Laude L. D., Soudant S., Beauvois S., Renaut D., Jadin A.: *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B* 131, 211 (1997).
 41. Michaljaničová I., Slepíčka P., Rimpelová S., Slepíčková Kasálková N., Švorčík V.: *Appl. Surf. Sci.* 370, 131 (2016).
 42. Obenschain S., Lehmborg R., Kehne D., Hegeler F., Wolford M., Sethian J., Weaver J., Karasik M.: *Appl. Opt.* 54, F103 (2015).
 43. Campbell D. S., v knize: *Physics of nonmetallic thin films* (Dupuy C. H. S., Cachard A., ed.), str. 9. Springer, Boston 1976.
 44. Siegel J., Kvítek O., Ulbrich P., Kolská Z., Slepíčka P., Švorčík V.: *Mater. Lett.* 89, 47 (2012).
 45. Abbaszadegan A., Ghahramani Y., Gholami A., Hemmateenejad B., Dorostkar S., Nabavizadeh M., Sharghi H.: *J. Nanomater.* 2015, 8 (2015).
 46. M.Raffi F. H., T.M.Bhatti, J.I.Akhter, A.Hameed, M.M.Hasan: *J. Mater. Sci. Technol.* 24, 192 (2008).
 47. Ghosh S., Patil S., Ahire M., Kitture R., Kale S., Pardesi K., Cameotra S. S., Bellare J., Dhavale D. D., Jabgunde A., Chopade B. A.: *Int. J. Nanomedicine* 7, 483 (2012).
 48. Lok C. N., Ho C. M., Chen R., He Q. Y., Yu W. Y., Sun H., Tam P. K., Chiu J. F., Che C. M.: *J. Proteome Res.* 5, 916 (2006).
 49. Rai M. K., Deshmukh S. D., Ingle A. P., Gade A. K.: *J. Appl. Microbiol.* 112, 841 (2012).
 50. Pulit-Prociak J., Banach M.: *Open Chem.* 14, 76 (2016).
 51. Sondi I., Salopek-Sondi B.: *J. Colloid Interface Sci.* 275, 177 (2004).
 52. Umadevi M., Rani T., Balakrishnan T., Ravichandran R.: *Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol.* 4, 1491 (2011).
 53. Radzig M. A., Nadochenko V. A., Koksharova O. A., Kiwi J., Lipasova V. A., Khmel I. A.: *Colloids Surf., B* 102, 300 (2013).
 54. Hsueh Y.-H., Lin K.-S., Ke W.-J., Hsieh C.-T., Chiang C.-L., Tzou D.-Y., Liu S.-T.: *PLoS One* 10, e0144306 (2015).
 55. Morones J. R., Elechiguerra J. L., Camacho A., Holt K., Kouri J. B., Ramirez J. T., Yacaman M. J.: *Nanotechnology* 16, 2346 (2005).
 56. Wijnhoven S. W. P. a 14 spoluautorů: *Nanotoxicology* 3, 109 (2009).
 57. Zhang W., Xiao B., Fang T.: *Chemosphere* 191, 324 (2018).
 58. Peretyazhko T. S., Zhang Q., Colvin V. L.: *Environ. Sci. Technol.* 48, 11954 (2014).
 59. Ma R., Levard C., Judy J. D., Unrine J. M., Durenkamp M., Martin B., Jefferson B., Lowry G. V.: *Environ. Sci. Technol.* 48, 104 (2014).
 60. Zhang W., Liu X., Bao S., Xiao B., Fang T.: *J. Nanopart. Res.* 18, 372 (2016).
 61. Dobias J., Bernier-Latmani R.: *Environ. Sci. Technol.* 47, 4140 (2013).
 62. Li X. Z., Nikaido H., Williams K. E.: *J. Bacteriol.* 179, 6127 (1997).
 63. Samberg M. E., Orndorff P. E., Monteiro-Riviere N. A.: *Nanotoxicology* 5, 244 (2011).
 64. Wong K. K. Y., Liu X.: *Med. Chem. Commun.* 1, 125 (2010).
 65. Dakal T. C., Kumar A., Majumdar R. S., Yadav V.: *Front. Microbiol.* 7, 1831 (2016).
 66. Recordati C., De Maglie M., Bianchessi S., Argentiére S., Cella C., Mattiello S., Cubadda F., Aureli F., D'Amato M., Raggi A., Lenardi C., Milani P., Scanziani E.: *Part. Fibre Toxicol.* 13, 12 (2016).
 67. Siegel J., Kolářová K., Vosmanská V., Rimpelová S., Leitner J., Švorčík V.: *Mater. Lett.* 113, 59 (2013).
 68. Vosmanská V., Kolářová K., Rimpelová S., Kolská Z., Švorčík V.: *RSC Adv.* 5, 17690 (2015).
 69. Staszek M., Siegel J., Rimpelová S., Lyutakov O., Švorčík V.: *Mater. Lett.* 158, 351 (2015).
 70. Lyutakov O., Goncharova I., Rimpelová S., Kolářová K., Švanda J., Švorčík V.: *Mater. Sci. Eng., C* 49, 534 (2015).
 71. Švanda J., Gromov M., Kalachyova Y., Postnikov P., Švorčík V., Lyutakov O.: *J. Nanopart. Res.* 18, 289 (2016).
 72. Slepíčka P., Elashnikov R., Ulbrich P., Staszek M., Kolská Z., Švorčík V.: *J. Nanopart. Res.* 17, 11, 1 (2015).
 73. Lyutakov O., Kalachyova Y., Solovyev A., Švanda J., Siegel J., Ulbrich P., Švorčík V.: *J. Nanopart. Res.* 17, 120, 1 (2015).
 74. Slepíčka P., Slepíčková Kasálková N., Siegel J., Kolská Z., Bačáková L., Švorčík V.: *Biotechnol. Adv.* 33, 1120 (2015).
 75. Josset S., Keller N., Lett M.-C., Ledoux M. J., Keller V.: *Chem. Soc. Rev.* 37, 744 (2008).
 76. Volker C., Oetken M., Oehlmann J.: *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 223, 81 (2013).
 77. Vatansever F., de Melo W. C. M. A., Avci P., Vecchio D., Sadasivam M., Gupta A., Chandran R., Karimi M., Parizotto N. A., Yin R., Tegos G. P., Hamblin M. R.: *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 955 (2013).
 78. Liu J., Hurt R. H.: *Environ. Sci. Technol.* 44, 2169 (2010).
 79. He D., Jones A. M., Garg S., Pham A. N., Waite T. D.: *J. Phys. Chem. C* 115, 5461 (2011).
 80. Holt K. B., Bard A. J.: *Biochemistry* 44, 13214 (2005).

J. Siegel, I. Nemogová, M. Polívková, and V. Švorčík (*Department of Solid State Engineering, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Silver-Polymer Nanocomposites in Bioengineering**

This review discusses the methods of the nanofabrication of metal-polymer composites, especially those based on silver nanostructures. The advantages of composites based on biocompatible polymer matrix, as well as their modifications with suitable techniques are broadly dis-

cussed. Different forms of silver nanostructures are reviewed with special emphasis on their antimicrobial activity. Mechanisms of the antimicrobial action of the silver nanostructures are summarized together with proposed ways of passing through the cell wall and processes triggered in cellular environment.

Keywords: nanofabrication, nanocomposites, excimer laser, antibacterial activity