



Zastosowanie nanosrebra w biomateriałach o własnościach bakteriobójczych

M. Nowak^a, M. Szczęsna^b, P. Malara^b

^a Absolwent Politechniki Śląskiej, Wydział Mechaniczny Technologiczny

^b Politechnika Śląska, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych, Zakład Technologii Procesów Materiałowych, Zarządzania i Technik Komputerowych w Materiałoznawstwie

email: magdalena.szczesna@polsl.pl, email: piotr.malara@polsl.pl

Streszczenie: Artykuł przedstawia własności nanosrebra, przykłady jego zastosowania w medycynie i stomatologii, mechanizmy działania bakteriobójczego jak i na potencjalnych zagrożeniach dla ludzi i środowiska wynikających bezpośredniego kontaktu z nanocząsteczkami srebra.

Abstract: This article is about nanosilver properties including examples uses in medicine and dentistry, bactericidal mechanisms and potential hazards of nanoparticles of silver for humans and environment.

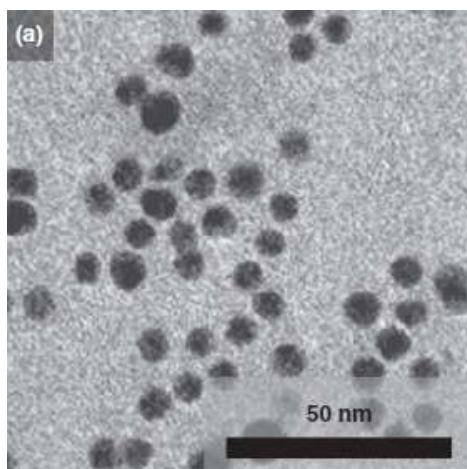
Słowa kluczowe: biomateriały, nanosrebro, własności bakteriobójcze

1. WSTĘP

Kiedy Richard P. Feynman w latach 50. XX wieku wygłosił wykład pt. „*There's Plenty of Room at the Bottom*” (co można tłumaczyć jako *Tam na dole jest jeszcze dużo miejsca*), ludzie nie wyobrażali sobie możliwości jakie kryje nanotechnologia. Dzisiaj, ponad 50 lat później świat czerpie pełnymi garściami z jej możliwości zastosowania. Świat przekonał się o tym jakie możliwości daje nam miniaturyzacja do skali rzędu pojedynczego atomu. Z możliwości tych z dnia na dzień korzysta coraz więcej dziedzin nauki, w tym ogromny udział mają medycyna i stomatologia. Cząstki nanometrycznej wielkości, mniejszej niż 100 nm, obecnie przyciągają wielką uwagę ze względu na ich szeroki wachlarz zastosowań dzięki unikalnym własnościom. Jednymi z pierwszych cząsteczek poddanych badaniom były nanocząsteczki srebra – okazało się, że posiadają własności tak bardzo pożądane w leczeniu i profilaktyce zdrowotnej jak antybakteryjność, samooczyszczanie czy wyszukiwanie i zwalczanie czynników patogennych. Artykuł ten skupia się na przedstawieniu własności nanosrebra, przykładów jego zastosowania w medycynie i stomatologii, mechanizmów działania bakteriobójczego jak i na potencjalnych zagrożeniach dla ludzi i środowiska wynikających bezpośredniego kontaktu z nanocząsteczkami srebra.

2. WŁASNOŚCI NANOSREBRA

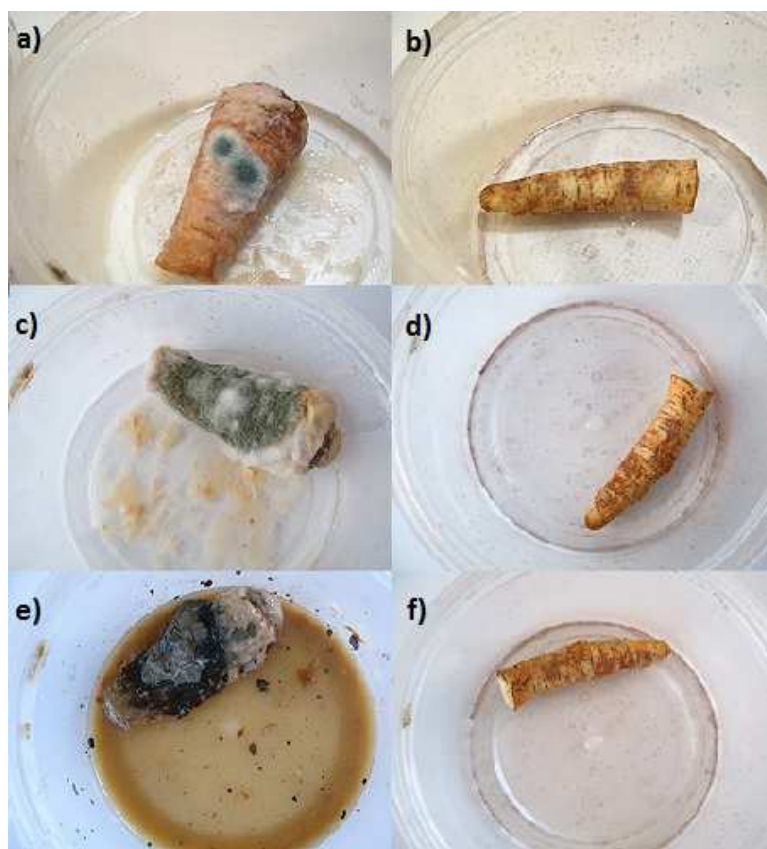
Nanocząsteczki srebra (ang. *Silver Nanoparticles*, NS) są jednymi z pierwszych materiałów o charakterze nanometrycznym (rys. 1), na których w ostatnich latach zostały przeprowadzone skrupulatne badania mające na celu identyfikację, zrozumienie oraz opisanie ich silnie hamujących oraz bakteriobójczych własności [2,3]. Przeprowadzone badania pozwalają na wykorzystanie nanosrebra w szerokim spektrum zastosowań, m.in. w przemyśle do pakowania jedzenia, budownictwie w farbach i pigmentach, filtrach do wody i powietrza oraz w medycynie i stomatologii np. jako cienkie warstwy antybakteryjne, środki o działaniu przeciwpalnym i przyspieszającym proces gojenia się ran czy oparzeń [1,3,4].



Rysunek 1. Zdjęcie z mikroskopu elektronowego przedstawiające nanocząsteczki srebra [1]
Figure 1. Scanning electron micrograph of silver nanoparticles [1]

Dzisiaj nanotechnologia zyskuje coraz większe znaczenie ze względu na jej zdolności do modyfikowania cząsteczek w skali nanometrycznej, co drastycznie zmienia własności chemiczne, fizyczne i optyczne materiałów. Jest to o tyle ważne, gdyż wiele patogennych bakterii rozwinęło odporność na wiele antybiotyków. Różne rodzaje nanomateriałów takich jak miedź, cynk, tytan czy srebro cechują się własnościami antybakteryjnymi, ale to właśnie nanocząstki srebra okazały się być najbardziej skuteczne wykazując najlepszą antybakteryjną skuteczność wobec bakterii, wirusów i innych eukariotycznych mikroorganizmów. Własności NS są determinowane przez metodę wytwarzania cząsteczki, jej rodzaj oraz zawartości srebra i ilość uwalnianych jonów srebra – mogą to być m.in. metaliczne cząstki srebra, roztwory zawierające nanosrebro, nanoprety, nanopłytki, nanowypełniacze w kompozytach itd. Dodatkowo, aktywność przeciwbakteryjna różnych nanocząstek, jest ściśle związana z ich wielkością; to znaczy, że im mniejsza jest dana cząsteczka, tym wykazuje wyższą aktywność antybakteryjną [1,3,8].

Charakterystykę własności nanocząstek prowadzi się, stosując wiele różnych metod badawczych, takich jak transmisyjna i skaningowa mikroskopia elektronowa (TEM, SEM), mikroskopia sił atomowych (AFM), dynamiczne rozpraszanie światła (DLS), spektroskopia fotoelektronowa (XPS), rentgenowska proszkowa analiza dyfrakcyjna (XRD), spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) oraz spektroskopia UV-Vis. Techniki te są wykorzystywane do określania różnych cech, takich jak wielkość i kształt cząstek, wielkość porów, pola powierzchni właściwej czy działanie bakteriobójcze [1,2,3,8,9,12].



Rysunek 2. Wpływ roztworu wodnego zawierającego cząsteczki nanosrebra o stężeniu $50 \mu\text{g/g}$ firmy Nano-BioTech na rozwój bakterii na korzeniu pietruszki – po lewej: korzeń przechowywany w szczelnym pojemniku z tworzywa sztucznego po a) 55, c) 83, e) 167 dniach, po prawej: korzeń przechowywany w takim samym pojemniku spryskanym od wewnątrz roztworem wodnym zawierającym NS po b) 55, d) 83, f) 167 dniach [13]

Figure 2. Effect of an aqueous solution containing Nano-BioTech nano silver particles having a concentration of $50 \mu\text{g/g}$ on bacteria development on root parsley – left: root stored in a sealed plastic container after a) 55, c) 83 e) 167 days, right : root stored within the same container being sprinkled on the inside with an aqueous solution containing the NS b) 55, d) 83 F) 167 days [13]

Nanosrebro, w porównaniu do wszystkich innych dostępnych środków przeciwbakteryjnych, jest prawdopodobnie najsilniejszym środkiem przeciwbakteryjnym (rys. 2), który wykazuje silną toksyczność wobec szerokiego zakresu drobnoustrojów, a jednocześnie wyjątkowo niską toksyczność dla ludzi [12].

3. POWŁOKI ZAWIERAJĄCE NANOSREBRO NA MATERIAŁY BIOMEDYCZNE

Cząsteczki nanosrebra jak i innych pierwiastków dzięki swoim nanometrycznym wymiarom dają się wykorzystać jako różnego rodzaju środki, począwszy od roztworów wodnych, past czy żeli, a na cienkich warstwach skończywszy. W dużej mierze nanocząsteczki srebra stosowane są w powłokach na materiały biomedyczne. Różnorodność wykorzystywanych materiałów rodzimych, na które osadzone są powłoki, jak i samych powłok, daje możliwość precyzyjnego doboru komponentów w zależności od wymaganych do spełnienia kryteriów [1,3,12].

3.1. Nanowłókna dwutlenku tytanu (TiO_2) pokryte warstwą nanosrebra

Dwutlenek tytanu to półprzewodnikowy tlenek metalu wykazujący stosunkowo wysoką aktywność fotokatalityczną, trwałość chemiczną, brak szkodliwego wpływu na środowisko, własności superhydrofilowe i działanie przeciwbakteryjne. Włókna TiO_2 wytworzone metodą elektroprzędzenia i pokryte nanocząsteczkami srebra wykazują własności bakteriobójcze, samooczyszczające oraz zdolność do rozkładu toksyn [5].

3.2. Antybakteryjna powłoka tytanu o strukturze nanometrycznej sprzężona z nanocząsteczkami srebra

Tytanowe implanty są szeroko stosowane w praktyce, jednak występujące zakażenia po zabiegu są jednymi z najbardziej rozpowszechnionych i najczęściej występujących komplikacji po zabiegu. Związane jest to z kontaktem bakterii z powierzchnią wprowadzonego implantu. Z uwagi na ten fakt, powierzchnie wykazujące zwiększone zdolności zachowania długoterminowej odporności na działanie bakterii są wysoce pożądane w implantologii. Badania wykazały, że warstwa tytanu pokryta nanorurkami tytanowymi wypełnionymi nanocząsteczkami srebra spełnia ten warunek wykazując własności antybakteryjne oraz zwiększony okres zachowania tej własności. Materiał taki będąc zanurzony w zawieszynie potrafi unicestwić wszystkie planktonowe bakterie w niej występujące; natomiast zapobieganie adhezji bakteryjnej do warstwy nanorurek wypełnionych NS utrzymuje się bez spadku wydajności nawet przez 30 dni, co jest wystarczająco długim okresem pozabiegowym do zapobiegania infekcjom. Taka dająca się modyfikować struktura pozwala na wykorzystanie w ortopedii czy stomatologii [8].

3.3. Dwukomponentowa powłoka poliuretanowa zawierająca nanocząsteczki srebra

Nanokompozyt o osnowie w postaci cienkiej poliuretanowej folii i wzmocnieniu w postaci nanocząsteczek srebra to kolejny przykład powłoki wykazującej podwyższone własności antybakteryjne. Struktura ta wykazuje podwyższony poziom Ti w obecności nanocząsteczek srebra. NS mają także wpływ na podwyższenie adsorpcji grup izocyjanianowych do ich powierzchni oraz na zmniejszenie reaktywności tych grup z wodą. Natomiast same cząsteczki srebra rozkładają się równomiernie w całej objętości poliuretanowej osnowy, dzięki czemu własności takiego kompozytu są zrównoważone w każdym jego miejscu [10].

3.4. Elastyczne nanowłókna z tlenku krzemu (SiO_2) pokryte nanosrebrem

Nanowłókna SiO_2 dzięki swojej elastyczności mogą łatwo przybierać pożądany kształt, co pozwala na ich zastosowanie m.in. jako opatrunki wspomagające gojenie ran. NS sprzężone w powłoce z tlenku krzemu znacznie hamuje proliferację bakterii zachowując jednocześnie silne, długoterminowe działanie antybakteryjne w warunkach otoczenia, co w konsekwencji pozwala na zastosowanie jako antybakteryjna osłona rany wielokrotnego użytku. Ponadto, badanie cytotoksykologiczne wykazuje brak toksyczności dla komórek ludzkich, a nawet przyspieszenie ich wzrostu. Włókniny tlenku krzemu z NS można łatwo przystosować do ponownego użytku poprzez kalcynowanie w atmosferze [11].

Idealne własności powłoki antybakteryjnej obejmują przede wszystkim biokompatybilność, wysoką, przedłużoną aktywność bakteriobójczą, zdolność do działania w zwalczaniu szerokiego spektrum bakterii, jak i najmniejszą toksyczność. Ponadto, powłoki powinny być

tanie, powtarzalne i minimalizujące ryzyko szkodliwego wpływu na środowisko. Aktywność w badaniach nad polepszaniem własności powłok jest bardzo wysoka, specjaliści cały czas starają się je udoskonalić [11].

4. MATERIAŁY ZAWIERAJĄCE NANOSREBRO I ICH ZASTOSOWANIE

Unikatowe własności nanosrebra pozwalają na jego szerokie wykorzystanie w medycynie i stomatologii. Cewniki dożylnie, rurki dotchawicze, opatrunki, cementy kostne, wypełnienia ubytków czy elementy implantacyjne, w tym stosowane w jamie ustnej, to jedynie kilka przykładów – jednak w każdym z nich zakażenie może doprowadzić do konsekwencji zdrowotnych, utrudniania prostych czynności życia codziennego lub nawet zagrożenia życia pacjenta. W związku z tym leczenie i gojenie się ran wspiera się antybiotykami – niektóre bakterie jednak zdołały się na nie uodpornić. Fakt ten wymusza ciągłe prowadzenie badań i poszukiwanie materiałów do ochrony biernej wykazujących podwyższone własności antibakteryjne. Badania nad nanocząsteczkami srebra pozwalają na coraz to nowsze, bardziej innowacyjne wykorzystanie w medycynie i stomatologii [1,4,6].

Przykłady zastosowań nanosrebra w medycynie i stomatologii:

- sulfadiazyny srebra jako środki do przyspieszania gojenia się ran ze względu na ich powolne i ciągłe reagowanie z surowicą i innymi płynami ludzkiego ciała [1,4,9];
- opatrunki, kremy i żele zawierające nanosrebro do skutecznego zmniejszenia infekcji bakteryjnych (w tym infekcji jamy ustnej) w ranach przewlekłych [9];
- nanocząstki srebra zawierające nanowłókna poliwinylu jako środki antibakteryjne przy opatrywaniu ran [9];
- nanocząsteczki srebra jako wspomagacze podczas gojenia się ran przy wymaganiu zachowania estetyki wyglądu zewnętrznego [9];
- sprzęt medyczny oraz implanty pokryte cienkimi warstwami NS [1,4,9];
- antibakteryjna farba zawierająca nanocząsteczki srebra [1,9];
- zeolit srebra stosowany przy dezynfekcji i dekontaminacji [9].

5. MECHANIZM DZIAŁANIA BAKTERIOBÓJCZEGO NANOSREBRA

Dokładny mechanizm działania srebra na mikroorganizmy nie jest jeszcze znany, ale możliwe mechanizmy działania metalicznego srebra, jonów srebra i nanocząstek srebra zaproponowano według morfologicznych zmian strukturalnych w komórkach bakteryjnych poddanych działaniu srebra [9].

5.1. Mechanizm działania srebra

Mechanizm działania srebra wiąże się z jego interakcją ze związkami z grupy tiolowej znajdującymi się w enzymach oddechowych komórek bakteryjnych. Srebro wiąże się ze ścianą i błoną komórkową bakterii i hamuje w ten sposób proces oddychania drobnoustroju. Różnica występuje w przypadku *Escherichia coli* – srebro działa przez hamowanie wchłaniania fosforanów i uwalnianie fosforanów, mannitu, bursztynianów, proliny i glutaminy z komórek *E. coli*. Srebro potrafi także łączyć się z DNA i RNA bakterii powodując denaturację białek, co w konsekwencji doprowadza do zahamowania replikacji bakterii [9].

5.2. Mechanizm działania jonów srebra

Mechanizm ten nie jest do końca znany, jednak da się zaobserwować zmiany strukturalne i morfologiczne poprzez działanie jonów srebra na bakterie. Sugeruje się, że gdy cząsteczki DNA są w stanie niezmienionym, replikacja DNA może być skutecznie przeprowadzona. Jednak kiedy DNA jest w postaci skroplonej, traci swoją zdolność do replikacji. Gdy jony srebra przenikają do komórki bakteryjnej, cząsteczka DNA przechodzi do postaci skondensowanej i traci swą zdolność do replikacji, co prowadzi do śmierci komórki [9].

5.3. Mechanizm działania zeolitu srebra

Jony srebra odgrywają kluczową rolę w aktywności antybakteryjnej zeolitu srebra. Twierdzi się, że możliwe działanie zeolitu srebra może być spowodowane przyjmowaniem jonów srebra przez komórki bakterii, gdy te są w kontakcie z zeolitem srebra, który hamuje ich funkcje komórkowe i uszkadza komórkę. Z drugiej jednak strony, działanie bakterio-bójcze może być wynikiem wytwarzania reaktywnych cząstek tlenu, które hamują oddychanie komórki prowadząc do jej śmierci [9].

5.4. Mechanizm działania sulfadiazyny srebra

Sulfadiazyna srebra łączy się z elementami komórki bakterii (w tym z jej DNA) i powoduje uszkodzenie błony komórkowej. Poprzez łączenie się srebra z parami w łańcuchu DNA następuje zahamowanie wzrostu bakterii oraz zahamowanie transkrypcji DNA i dalsza śmierć bakterii [9].

5.5. Mechanizm działania nanocząsteczek srebra

Nanocząsteczki srebra wykazują wyższą skuteczność w działaniu antybakteryjnym w porównaniu z innymi związkami ze względu na ich bardzo dużą powierzchnię, co zapewnia lepszy kontakt z mikroorganizmami. NS łączą się z błoną komórkową bakterii, a następnie do niej wnikają. Błona ta zawiera białka zaopatrzone w siarkę, z którymi w komórce bakteryjnej reaguje nanosrebro. Cząsteczki NS reagują także ze związkami zawierającymi fosfor – takim związkiem jest np. DNA. Kiedy nanocząstki srebra wnikają do komórki bakteryjnej tworzą obszar o małej masie cząsteczkowej w jej środku chroniąc tym samym DNA przed szkodliwym działaniem jonów srebra (NS uwalniają jony srebra wewnątrz bakterii co podnosi ich skuteczność). Cząsteczki srebra atakują w tym czasie układ mitochondrialny, co prowadzi do śmierci bakterii [9].

6. POTENCJALNE ZAGROŻENIA ZDROWOTNE STOSOWANIA SREBRA W MATERIAŁACH BIOMEDYCZNYCH

Nie jest jednoznacznie przedstawiony i udowodniony negatywny wpływ oddziaływania cząsteczek srebra w skali nanometrycznej na organizm człowieka czy środowisko. Ocena toksyczności NS jest zatem poważnym problemem [4].

Po pierwsze, naturalna i oczywista zaleta srebra w nanometrycznej skali może również okazać się jej niebezpieczną wadą. Kiedy „rozbije się” srebro do nanowymiarów, cząstki osiągają takie rozmiary, że bez problemu mogą penetrować ścianę komórkową i wnikać do

wnętrza komórek człowieka. Jeśli nanosrebro dostanie się do komórki, może powodować w niej nieodwracalne zmiany. Związane jest to z wymiarami cząsteczek srebra i cząsteczek biologicznych (przykładowo, DNA i białka są wielkości rzędu około 2 nm, podobnych wymiarów są cząsteczki NS). Może to prowadzić do denaturacji białek i uszkodzenia łańcucha DNA. Problem ten jest dodatkowo potęgowany przez toksyczność pierwiastkowego srebra oraz biologiczną aktywność jonów srebra [4].

Innym problemem jest również niezbadana jak dotąd zdolność nanocząsteczek srebra do indukowania nieprawidłowości morfologicznych ludzkich komórek. Wykazano natomiast, że NS może mieć niekorzystny wpływ na rozwój zarodków niektórych gatunków ryb zależny od przyjętej dawki srebra [4].

Wraz z rosnącym wykorzystaniem produktów zawierających nanosrebro w różnej postaci wzrasta uwalnianie tych cząsteczek do oczyszczalni, systemów odprowadzania ścieków i wód, co staje się coraz większym problemem. Zostały przeprowadzone badania, które udowodniły uwalnianie się nanocząsteczek srebra z ubrań poddanych praniu w zwykłej pralce. Szacuje się, że co roku do wód Europejskich trafia nawet 410 ton srebra [7].

W badaniach toksyczności cząsteczek nanosrebra różnych wielkości na komórkach wątroby szczura po 24 godzinach ekspozycji stwierdzono anomalia rozmiaru i kształtu komórek. Natomiast w badaniach przeprowadzonych przy użyciu pięciu dostępnych na rynku preparatów zawierających srebro o nanometrycznych wymiarach wykazano ich cytotoksyczny wpływ na hodowlę keratynocytów i fibroblastów [9].

Podsumowując, zostało udowodnione, że NS mogą wykazywać znaczny poziom toksyczności, a długotrwała ekspozycja na działanie srebra zwiększa ryzyko wystąpienia argyrii (srebrzycy), czy zmian komórkowych u zwierząt – jak dotąd nie zanotowano schorzeń u ludzi w wyniku bezpośredniego działania nanocząsteczek srebra. Jednakże konieczne są badania i obserwacje ludzi narażonych na długoterminowe działanie NS w celu oceny potencjalnej toksyczności. Należy także podjąć badania systematyzujące w zastosowaniu nanosrebra w przedmiotach użytku codziennego [4,7,9].

LITERATURA

1. G.A. Sotiriou, S.E. Pratsinis, Engineering nanosilver as an antibacterial, biosensor and bioimaging material, *Current Opinion in Chemical Engineering* 1 (2011) 3-10.
2. G.A. Sotiriou, A. Teleki, A. Camenzind, F. Krumeich, A. Meyer, S. Panke, S.E. Pratsinis, Nanosilver on nanostructured silica: Antibacterial activity and Ag surface area, *Chemical Engineering Journal* 170 (2011) 547-554.
3. B. Sadeghi, F.S. Garmaroudi, M. Hashemi, H.R. Nezhad, A. Nasrollahi, S. Ardalan, S. Ardalan, Comparison of the anti-bacterial activity on the nanosilver shapes: nanoparticles, nanorods and nanoplates, *Advanced Powder Technology* 23 (2012) 22-26.
4. K. Chaloupka, Y. Malam, A.M. Seifalian, Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications, *Trends in Biotechnology* 28/11 (2010) 580-588.
5. C. Srisitthiratkul, V. Pongsorarith, N. Intasanta, The potential use of nanosilver-decorated titanium dioxide nanofibers for toxin decomposition with antimicrobial and self-cleaning properties, *Applied Surface Science* 257 (2011) 8850-8856.
6. P. Dallas, V.K. Sharma, R. Zboril, Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives, *Advances in Colloid and Interface Science* 166 (2011) 119-135.

7. Z. Liang, A. Das, Z. Hu, Bacterial response to a shock load of nanosilver in an activated sludge treatment system, *Water Research* 44 (2010) 5432-5438.
8. L. Zhao, H. Wang, K. Huo, L. Cui, W. Zhang, H. Ni, Y. Zhang, Z. Wu, P.K. Chu, Antibacterial nano-structured titania coating incorporated with silver nanoparticles, *Biomaterials* 32 (2011) 5706-5716.
9. M. Rai, A. Yadav, A. Gade, Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnology Advances* 27 (2009) 76-83.
10. M. Akbarian, M.E. Olyaa, M. Ataefard, M. Mahdavian, The influence of nanosilver on thermal and antibacterial properties of a 2 K waterborne polyurethane coating, *Progress in Organic Coatings* 75 (2012) 344-348.
11. Z. Ma, H. Ji, D. Tan, Y. Teng, G. Dong, J. Zhou, J. Qiu, M. Zhang, Silver nanoparticles decorated, flexible SiO₂ nanofibers with long-term antibacterial effect as reusable wound cover, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 387 (2011) 57-64.
12. K.M.M. Abou El-Nour, A. Eftaiha, A. Al-Warthan, R.A.A. Ammar, Synthesis and applications of silver nanoparticles, *Arabian Journal of Chemistry* 3/3 (2010) 135-140.
13. B. Jelonek, Nano-BioTech, Dostępný w internecie: <http://nano-biotech.pl/index.php> – dostęp 2010.