

Περίληψη

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε το φαινόμενο της προσρόφησης βασικών πρωτεϊνών του πλάσματος του αίματος σε λεπτά υμένα άμορφου υδρογονωμένου άνθρακα (a-C:H), άμορφου νιτριδίου του βορίου (a-BN) και διβοριδίου του τιτανίου (TiB₂). Αναπτύχθηκαν πολυμερικά υμένα που περιέχουν νανοσωματίδια οξειδίου του ψευδαργύρου (ZnO) και μελετήθηκε η δράση τους έναντι της προσκόλλησης βακτηρίων του είδους *Staphylococcus aureus*. Επίσης, μελετήθηκε η αντιβακτηριδιακή δράση των υμενίων a-C:H και TiB₂. Η μελέτη των οπτικών ιδιοτήτων των υμενίων και των προσροφημένων πρωτεϊνών, καθώς και η μελέτη της πρωτεϊνικής προσρόφησης σε πραγματικό χρόνο, έγιναν με την τεχνική της Φασματοσκοπικής Ελλειψομετρίας (ΦΕ). Η επιφανειακή τοπογραφία των υμενίων και των προσροφημένων πρωτεϊνών μελετήθηκε με την τεχνική της Μικροσκοπίας Ατομικών Δυνάμεων (AFM). Για τη μελέτη της κατανομής του επιφανειακού ηλεκτρικού φορτίου και της υδροφιλικότητας των υμενίων χρησιμοποιήθηκαν οι τεχνικές της Μικροσκοπίας Ηλεκτρικών Δυνάμεων (EFM) και μετρήσεις γωνίας επαφής (Contact angle, CA).

Τα κύρια αποτελέσματα της διατριβής μπορούν να συνοψιστούν ως ακολούθως:

Αρχικά, για την περίπτωση της αρχικής εκτίμησης αιμοσυμβατότητας μέσω της παρατήρησης της προσρόφησης αλβουμίνης (HSA) και ινωδογόνου (Fib), έγινε συσχέτιση των ιδιοτήτων των υμενίων προς μελέτη με το λόγο προσρόφησης αλβουμίνης / ινωδογόνο ($\Gamma_{HSA} / \Gamma_{Fib}$). Στα υμένα a-C:H πρωταρχικό ρόλο παίζει η τραχύτητα των υμενίων, καθώς τα περισσότερο τραχιά δείγματα ευνοούν την προσρόφηση της HSA (η επιφανειακή τους τραχύτητα είναι συγκρίσιμη με το μέγεθος του πρωτεϊνικού μορίου της) και συνεπώς παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη τιμή $\Gamma_{HSA} / \Gamma_{Fib}$. Οι τιμές του λόγου $\Gamma_{HSA} / \Gamma_{Fib}$ για τα υμένα που περιέχουν βόριο (a-BN και TiB₂) είναι υψηλότερες σε σύγκριση με αυτές των υμενίων a-C:H. Οι επιφανειακές ιδιότητες των υμενίων είναι κυρίως εκείνες που καθορίζουν την πρωτεϊνική προσρόφηση. Τα υμένα a-BN που περιέχουν το περισσότερο βόριο στην επιφάνεια (τα λιγότερο ηλεκτραρνητικά), που είναι και τα περισσότερο υδρόφιλα, φαίνεται να έλκουν λιγότερο το ινωδογόνο και να μην ευνοούν την προσρόφηση του. Στα υμένα TiB₂ που περιέχουν περισσότερο B στην επιφάνειά τους (τα περισσότερο ηλεκτραρνητικά) παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη τιμή λόγου προσρόφησης αλβουμίνης / ινωδογόνου.

Οι οπτικές ιδιότητες των δύο πρωτεϊνών είναι παρόμοιες. Τόσο η αλβουμίνη όσο και το ινωδογόνο είναι διαφανείς μέχρι τα 4eV περίπου και η πρωτεΐνη HSA παρουσιάζει λίγο μεγαλύτερη τιμή δείκτη διάθλασης ($n(\omega=0\text{eV})=1.43$) σε σχέση με αυτήν του δείκτη διάθλασης του Fib ($n(\omega=0\text{eV})=1.40$). Η ενέργεια μέγιστης απορρόφησης και των δύο πρωτεϊνών είναι περίπου 7.0 eV και οφείλεται κυρίως στους πεπτιδικούς δεσμούς.

Από τις εικόνες τοπογραφίας AFM φαίνεται ότι το προσροφημένο ινωδογόνο είτε διατηρεί το χαρακτηριστικό του σχήμα με τις τρεις σφαιρικές περιοχές, είτε παίρνει ωσειδή μορφή, ενώ μπορεί να έχει ευθεία διαμόρφωση, να κάμπτεται, και πολλές φορές τα μόρια είναι ενωμένα μεταξύ τους.

Οι μηχανισμοί προσρόφησης του ινωδογόνου σε λεπτά υμένα a-C:H διερευνήθηκαν σε πραγματικό χρόνο με την τεχνική της ΦΕ, σε pH 7.4 και στο ισοηλεκτρικό του σημείο (pI 5.8). Το ελλειψομετρικό μοντέλο που αναπτύχθηκε περιγράφει λεπτομερώς το φαινόμενο της πρωτεϊνικής προσρόφησης, με πληροφορίες σχετικά με το πάχος της σχηματιζόμενης στιβάδας του ινωδογόνου και σχετικά με τη μετατροπή της πρωτεΐνης από τη μορφή διαλύματος στην προσροφημένη της

μορφή. Η τιμή του ενεργειακού χάσματος (E_g) που έχει το προσροφημένο ινωδογόνο είναι δείκτης της αφυδάτωσης του μορίου του, και είναι μεγαλύτερη στο πιο υδρόφοβο λεπτό υμένιο a-C:H, που δείχνει ότι σε αυτό το προσροφημένο ινωδογόνο είναι πιο αφυδατωμένο. Η μέγιστη οπτική απορρόφηση (E_o) του ινωδογόνου στο φυσιολογικό pH 7.4 (5.55eV και 6.73eV) και οφείλεται στους πεπτιδικούς δεσμούς και στη δευτεροταγή δομή του ινωδογόνου. Στο ισοηλεκτρικό σημείο pI 5.8 η συνεισφορά της δευτεροταγούς διαμόρφωσης εξαφανίζεται και παραμένει μόνο η συνεισφορά των πλευρικών αρωματικών ομάδων των αμινοξικών υπολοίπων, μετατοπίζοντας την ενέργεια E_o σε μικρότερες τιμές.

Οι τιμές πάχους και ποσοστού όγκου του προσροφημένου ινωδογόνου επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από την επιφανειακή τοπογραφία (νανοδομές) και την υδροφοβικότητα των λεπτών υμενίων a-C:H που μελετήθηκαν. Στο υμένιο με πολύ μικρές επιφανειακές νανοδομές δεν διευκολύνεται η πρόσδεση του ινωδογόνου. Επίσης, η υδροφοβικότητά του αναγκάζει το μόριο του ινωδογόνου να αλλάξει διαμόρφωση, ώστε οι υδρόφιλες ομάδες του να μετακινούνται προς το εσωτερικό του και οι υδρόφοβες να εκτίθενται προς την επιφάνεια του υμενίου. Για το λόγο αυτόν, οι τιμές πάχους και ποσοστού όγκου του προσροφημένου ινωδογόνου παρουσιάζουν διακυμάνσεις ενδεικτικές των αλλαγών στη διαμόρφωση των μορίων του ινωδογόνου κατά τη διάρκεια της προσρόφησης. Αντίθετα, για το πιο υδρόφιλο υμένιο με μεγαλύτερες επιφανειακές νανοδομές, παρατηρείται σταθερή αύξηση στις τιμές πάχους και ποσοστού όγκου του προσροφημένου ινωδογόνου.

Τα πειραματικά δεδομένα από τη ΦΕ σε συνδυασμό με τη χρήση κατάλληλου μοντέλου κινητικής αποκάλυψαν ότι το συνολικό φαινόμενο της πρωτεϊνικής προσρόφησης του ινωδογόνου πάνω στα υμένια a-C:H λαμβάνει χώρα σε δύο στάδια: ένα ταχύτατο πρώτο στάδιο, όπου λαμβάνει χώρα η προσρόφηση του μεγαλύτερου μέρους της ποσότητας της πρωτεΐνης, κι ένα δεύτερο βραδύτερο. Δύο πιθανά αίτια προτείνονται για την εμφάνιση δύο σταδίων στο φαινόμενο της προσρόφησης του ινωδογόνου πάνω στα υμένια a-C:H. Αυτά αφορούν στον απαραίτητο για τα πρωτεϊνικά μόρια χρόνο εφησυχασμού ανάμεσα στα δύο στάδια, για την απόκτηση κατάλληλου προσανατολισμού και διαμόρφωσης των μορίων ινωδογόνου πάνω στην επιφάνεια, και στην επίδραση των διαφορετικών τοπικών επιφανειακών φορτίων των υμενίων που μελετήθηκαν που έλκουν διαφορετικές περιοχές του μορίου του ινωδογόνου και με διαφορετικό ρυθμό πρόσδεσης.

Όσον αφορά τη μελέτη των αντιβακτηριδιακών ιδιοτήτων υμενίων a-C:H και TiB₂, έναντι του βακτηρίου *Staphylococcus aureus*, αυτά ευνοούν την προσκόλλησή του σε σύγκριση με το c-Si, αλλά τα υμένια a-C:H και TiB₂ που βρέθηκαν να έχουν μεγαλύτερες τιμές λόγου $\Gamma_{HSA} / \Gamma_{Fib}$ ευνοούν λιγότερο την προσκόλληση των βακτηρίων.

Τέλος, παρασκευάστηκαν νανοσωματίδια (NPs) οξειδίου του ψευδαργύρου (ZnO) σε θερμοκρασίες 23°C (με σύσταση ZnO και Zn(OH)₂ και μέγεθος 20-30nm), 70°C (σύσταση ZnO, μέγεθος 15-17nm) και 90°C (σύσταση ZnO, μέγεθος 25-30nm) και αναπτύχθηκαν πολυμερικά υμένια που περιέχουν ZnO NPs σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις. Το μέγεθος των NPs παίζει ρόλο στις μικρές συγκεντρώσεις των NPs στα υμένια που αναπτύχθηκαν, λόγω του αυξημένου λόγου επιφάνειας-όγκου, που οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή H₂O₂, το οποίο διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη και παρεμποδίζει την ανάπτυξη και την επιβίωση των βακτηρίων. Σε μεγάλη συκέντρωση NPs όλα τα υμένια που τα περιέχουν παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντιβακτηριδιακή δραστηριότητα σε σύγκριση με αυτήν που έχει μόνο το πολυμερικό υμένιο.