

## Souhrn

Chronické rány představují závažný socio-ekonomický problém. Příčin, proč se rána zcela nezhojí nebo je hojení protrahované, je celá řada. Jedním z významnějších důvodů je infekce rány. Ta podporuje prozánětlivou odpověď organismu, která mimo jiné brání postupu rány do dalších fází hojení. V důsledku bakteriální infekce jsou také zvýšené hladiny proteináz, které degradují mezibuněčnou hmotu. Navíc řada bakterií produkuje vlastní proteinázy, aby si zajistily živiny a zvýšily svou virulenci.

Kvůli snížení bakteriální nálože jsou chronické rány ošetřovány antiseptiky. To jsou antimikrobiální látky působící převážně nespecifickými mechanismy. Tato neselektivita představuje výhodu, ale i nevýhodu. Kromě bakterií jsou antiseptiky zasaženy i hostitelské buňky v ráně. Poškození oněch hostitelských buněk však komplikuje zacelení rány. Toto nespecifické poškození eukaryotických i prokaryotických buněk je způsobeno i pravděpodobně nejrozšířenějším antiseptikem v léčbě chronických ran – stříbrem. Jeho efekt byl v této indikaci prokázán řadou klinických studií.

Disertační práce se komplexně věnuje efektům, které stříbro vyvolává v *in vitro* kontextu co nejrelevantnějšímu chronické ráně. Byly srovnávány vlastnosti čtyř komerčně dostupných krytů chronických ran obsahujících stříbro. Sledovali jsme jejich antimikrobiální působení na planktonické bakterie v roztoku a v kultuře na Petriho misce. Bylo také změřeno množství stříbra obsaženého v jednotlivých krytech. Zjistili jsme, že množství stříbra neodpovídá přímo jeho antimikrobiální aktivitě. Také v míře cytotoxicity byly pozorovány rozdíly, nejméně cytotoxický byl kryt Silvercel. Tento prostředek ale také patřil mezi nejméně antimikrobiálně účinné. Abychom zjistili, jak jsou *in vitro* výsledky na buňkách relevantní k cytotoxicitě v tkáních, aplikovali jsme stříbrné kryty na dermis prasečí kůže *ex vivo*. V dermis jsme detekovali průnik stříbra pomocí ICP-OES i histologicky autometalografickou metodou. S průnikem stříbra do kůže byl spjat i nárůst DNA poškození a genové exprese charakteristické pro stresovou odpověď. To, že stříbro obsažené v krytech je schopné vyvolat oxidační poškození a DNA zlomy, jsme potvrdili na buňkách, ke kterým byly přidány výluhy z krytů. Ukázali jsme, že stříbro má schopnost snižovat prozánětlivou odpověď neutrofilů (u monocytů se efekt neprojevil), ovšem za cenu jejich buněčné smrti.

V lidských chronických ranách byla sledována distribuce stříbra po dvou a šesti týdnech léčby komerčně dostupným krytem se stříbrem. Stříbro bylo nalezeno v makrofázích, asociované s mezibuněčnou hmotou a okolo kapilár. Vedle krytu se stříbrem bylo na ránu aplikováno také krytí obsahující antiseptikum oktenidin dihydrochlorid a kyselinu

hyaluronovou. Na histologické úrovni bylo zjištěno, že se rány hojily rychleji krytem obsahujícím oktenidin a kyselinu hyaluronovou. Rovněž byla spodina ran méně povleklá při použití krytu s oktenidinem a hyaluronanem. Genová exprese metalothioneinů byla zvýšená v částech ran léčených stříbrným krytem.

Antiproteinázová aktivita byla sledována u stříbra ve formě soli – laktátu stříbrného. Laktát stříbrný inhiboval lidské neutrofilové proteinázy, MMP-2 proteinázu, fibroblastové a keratinocytární proteinázy a bakteriální proteinázy. Efekt byl pozorován v závislosti na dávce stříbra. Nebyl pozorován specifický inhibiční efekt stříbra na sledované proteinázy. Zjistili jsme, že stříbro také inhibovalo endogenní proteinázy v prasečí kůži *ex vivo*. Obdobně jako u komerčních krytů bylo tedy ukázáno, že stříbro ve formě soli laktátu stříbrného může pronikat do prasečí kůže a působit v ní.

Stříbro se hojně používá v krytech chronických ran pro své dobré antimikrobiální vlastnosti. Naše výsledky cytotoxicity, distribuce stříbra v ráně a antiproteinázové aktivity však ukazují, že působení stříbra má mnoho dalších aspektů kromě zamýšleného antimikrobiálního. Inhibice nadměrné aktivity proteináz je v případě chronických ran vnímána jako pozitivní, cytotoxicita vůči stromálním nebo imunitním buňkám jako negativní. Ukázali jsme, že stříbro proniká do dermis, čímž jsme simulovali v laboratorních podmínkách expozici ran stříbrným krytům. Tato pozorování byla potvrzena i na ranách pacientů. Naše výsledky doplňují informace získané z klinických prací ukazujících zvýšenou hladinu stříbra v krvi a orgánech u pacientů, jejichž rány byly léčeny kryty se stříbrem. Je tedy na místě zvážit v dané situaci použití krytu se stříbrem po nezbytně krátkou dobu, nebo zvolit jiné antiseptikum, které je lépe tolerováno (např. oktenidin dihydrochlorid či polyhexanid).