

## POSUDEK OPONENTA DIZERTAČNÍ PRÁCE

*Jméno a příjmení doktoranda:* **Mgr. Vojtěch Pavlík**

*Doktorský studijní program:* **Fyziologie a patofyziologie člověka**

*Oponent dizertační práce:* **prof. MUDr. Vladimír Resl, CSc**

*Školitel:* **prof. MUDr. Monika Arenbergerová Ph.D.**

*Název dizertační práce:*

### **Antimikrobiální, cytotoxické a antiproteinázové vlastnosti stříbra používaného pro léčbu chronických infikovaných ran**

#### ***Aktuálnost zvoleného tématu:***

V posledních dvou dekadách se značně rozšířily naše znalosti o problematice chronických ran. Došlo ke zlepšení diagnostiky klinické i přístrojové, širšímu poznání, co se morfoloogicky a biochemicky odehrává v jednotlivých fázích hojení rány. Rapidně přibývá informací o dějích na molekulární úrovni. V posledních létech se daří obracet i přístup k léčbě, která byla poznamenána neúměrnou polypragmasií, nedodržel se potřebný přístup k vlhkému hojení ran. Etiologickým, nebo komplikujícím faktorem chronických ran jsou pravidelně nejružnější bakterie. Samozřejmě se začala užívat škála nespecifických antibakteriálních prostředků (jod, chlornany, sulfonamidy, chlorhexidin, oktenidin, triklosan) a antibiotik. Bohužel opět narůstala polypragmasie a stále se zvyšuje nebezpečí rezistence na antibiotika. To vše přináší nebezpečí a nárůst alergických reakcí, zejména kontaktního ekzému. Redukce bakterií je v ráně terapeuticky žádoucí, ale stále se hledá optimální lokální prostředek. Stříbro, léčebně užívané po staletí má malý senzibilizační potenciál, mnohdy se rány skutečně hojí, ale klinik zná i stavy, kdy valný efekt nepřichází. Přípravky s obsahem stříbra jsou na trhu v různé podobě (krémy, masti, nanomateriály, součásti obvazů, polyuretanové kryty atd.). Je tedy velice žádoucí objektivně prokázat přínosnost, nebo škodlivost stříbra, nebo zda je tomu jinak u jeho různých chemických forem, nebo ve vztahu k fázím hojivého procesu.

#### ***Stanovené cíle a hypotézy:***

Volba pracovních hypotéz předkladatelem disertace je správná, umožňuje nahlédnout a alespoň částečně odhalit širokou škálu problémů a navazujících vztahů, tj. antibakteriální působení, vliv na zánět, granulace, enzymatické aktivity v ráně a porovnání s jiným antibakteriálním prostředkem. Zvolené postupy je možné řádně statisticky zpracovat.

### ***Metodika***

Autor zvládl rozsáhlý soubor laboratorních postupů, přičemž všechny směřovaly k tomu, aby získal relevantní data. Testoval 4 typy léčebných prostředků, – krytů se stříbrem, ze kterých zhotovil výluhy, a ty byly posléze aplikovány na poměrně náročně připravené a kultivované čtverečky kůže ex vivo z vepřových uší. Pomocí markeru DNA imunofluorescencí a detekcí pomocí autometalografie stříbra byly vzorky zpracovány. Dále byly tyto, pro terapii již schválené, kryty aplikovány na ulcerace u pacientů a zafixovány. U těchto hospitalizovaných nemocných byly v procesu léčby provedeny 3 biopsie průbojníkem po znecitlivění 0., 2., 6., týden. Následně vzorky anonymně odečteny histopatologem, včetně stanovených šesti parametrů a pomocí skóre byly rány posouzeny. Dále byla prováděna zymografie in situ a zjišťována aktivita proteináz. Rovněž byla objektivně zhodnocena antimikrobiální efektivita všech 4 studovaných krytů a stanovena také jak se projevovala cytotoxicita na keratinocytech a fibroblastech. Navíc ke zhodnocení působení ještě zjišťováno i působení na DNA a genová exprese stresových genů, vyvolaná stříbrnými kryty. Práce je ještě doplněna sledováním vlivu stříbra na aktivitu proteináz ex vivo.

### ***Zpracování získaných dat***

Všechna data získaná pomocí pestrá škála mikroskopických, resp. histopatologických, mikrobiologických, biochemických, molekulárně biologických i genetických jsou pečlivě zpracována a objektivně věcně a statisticky zhodnocena s rozumnými závěry.

### ***Práce s literaturou***

V přehledu literatury kromě 3 vlastních publikací k tématu a jedné české jsou citovány pouze zahraniční tituly. Výběr literatury je moderní, odpovídá citační normě a zvolené problematice. Z vlastních prací, se bezprostředně předmětu dizertace týkají 3 publikace v zahraničních časopisech s IF a 8x měl příspěvek na kongresech v zahraničí. Kromě toho publikoval 9 dalších prací většinou s blízkým námětem hojení ran, rovněž s IF.

### ***Nové poznatky závěr a sumární hodnocení práce***

Přínosem práce je, jak autor prokázal, že kryty se stříbrem mají prokazatelnou antimikrobiální účinnost, i když tato není u všech zkoumaných preparátů identická. Zároveň bylo zjištěno, že přetrvává stříbro v ráně a následně je fagocytózou odstraňováno. Působí rovněž cytotoxicky a vykazuje antiproteinázovou aktivitu. Změny porovnal s použitím krytu s obsahem oktenidinu, který posléze doporučil jako vhodnější k léčbě, vzhledem k maturaci tkáně rány.



Z praxe známe, někdy velmi příznivý, jindy negativní, vliv na hojení rány, např. u Ialugenu. Zřejmě záleží na fázi, ve které se rána nachází. Také by bylo možné zkoumat rozdíly efektu a vstřebávání u akutních ran, neboť se v mnohém svými vlastnostmi od chronických liší. Optimální antiseptikum, resp. antibakteriální prostředek se hledá stále a velmi svízelně. Většinu antiseptik, antibiotik, chlorhexidin a mnohé další provází nežádoucí reakce. Stříbro málo senzibilizuje, méně vede ke kontaktním ekzémům, nebo urtikariím, často ránu zlepšuje, z čehož pramení jeho poměrná obliba. Práce poukázala, že je třeba sledovat v případě stříbrných preparátů jejich nežádoucí účinky, příp. je z léčebného arzenálu vyřadit. Použití obdobné pestré škály laboratorních metod, které předkladatel dizertace použil, může vypovědět mnoho při zpřesnění indikací a postupu hojení. Zjevně by se podobné metody měly stát standardem při zavádění nových topických preparátů.

Myslím, že v tomto směru předložená práce velmi přispěla k posunu možností a v přesnějším posuzování navrhovaných terapeutických přípravků.

#### *Připomínky- poznámky - náměty*

Připomínky nemám, spíše povzdech a smutek, že již nestačím spolupracovat s takto schopnými mladými lidmi z důvodu věku a finančních dotací a projektů. Ještě jsem stále zaměřen na bioinženýrské metody ve smyslu diagnostiky, mj. také v oblasti ran. Vidím také příznivý posun v laboratorních možnostech, o kterých se nám před 20 lety nesnilo. Bude-li p. magistr v dané oblasti ještě pracovat, tak odkazuji na moji habilitační knihu (Resl V. Hojení chronických ran, Grada Praha, 1997, s. 219, - s. 186, s. 197 antiseptika, Ag, Ialugen atd.) a to na část chemického vyšetřování spodiny ran. Zhotovili jsme tehdy skleněné zařízení spojené s vývěvou, které umožňovalo odběr transudátu ze spodiny vředu, což někdy může nahradit, ne příliš pacienty vítané biopsie. Za podobným účelem byly používány jako nosiče k chemickému vyšetřování (pozorován i jejich terapeutický efekt- nedokončeno) iontoměniče, užívané i ve formě membrán. Z nich bylo snadno možné získávat biologický materiál na vyšetření a zaměřit se na pH, úlohu iontů, osmotického tlaku aj. Při pokračování v práci bych doporučoval ještě více se zaměřit na jednotlivé fáze hojení rány (tj. fázi exudace, proliferace, remodelování a reepitelizaci, tj. fáze dle Hatze, Nemetha a na „leap-frog-hypothesis“ dle Woodleye, centrální úlohu makrofágů a vlivu cytokinů) ve vztahu k antiseptikům.

#### **Práci doporučuji k obhajobě**

V Plzni dne 24.2.2022

podpis oponenta dizertační práce



Prof. MUDr. Vladimír Resl, CSc.