

Streszczenie

Skóra jest wielowarstwowym narządem tworzącym barierę chroniącą przed fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi czynnikami środowiskowymi. Podczas zranienia dochodzi do przerwania ciągłości skóry, aktywacji ulegają m.in. keratynocyty oraz monocyty przybyłe w miejsce zranienia. Komórki dendrytyczne stanowią najefektywniej prezentującą antygeny populację komórek profesjonalnie prezentujących antygeny (APC), zdolną do zapoczątkowania swoistej odpowiedzi immunologicznej przeciwko patogenom obecnym w skórze. Nanocząstki srebra (AgNP) posiadają właściwości mikrobójcze i immunomodulacyjne. Połączenie właściwości nanocząstek srebra z właściwościami przeciwzapalnymi i mikrobójczymi kwasu taninowego umożliwia uzyskanie nowego środka ułatwiającego gojenie się ran.

W niniejszej rozprawie przedstawiono wyniki badań *in vitro* i *in vivo* dotyczących właściwości biologicznych nanocząstek srebra modyfikowanych kwasem taninowym w stosunku do wybranych komórek składowych skóry. W szczególności, celem badań *in vitro* przy użyciu linii ustalonych keratynocytów, fibroblastów, monocytów i komórek dendrytycznych było określenie: (i) cytotoksyczności nanocząstek srebra w zależności od wielkości i typu komórek, (ii) wpływu nanocząstek na ultrastrukturę komórek, oraz (iii) właściwości immunomodulacyjnych. Celem badań *in vivo* było: (iv) zbadanie wpływu nanocząstek srebra na lokalną odpowiedź zapalną, (v) lokalizacja nanocząstek na terenie rany podczas gojenia, (vi) zbadanie zdolności do penetracji nieuszkodzonej bariery biologicznej jaką stanowi błona śluzowa. Na podstawie przedstawionych badań można wnioskować, że: (a) toksyczność nanocząstek srebra zależy od wielkości, stężenia, modyfikacji kwasem taninowym oraz jest komórkowo specyficzna, (b) toksyczne stężenia nanocząstek w liniach komórkowych keratynocytów, monocytów i komórek dendrytycznych indukują głównie nekrozę, natomiast w linii fibroblastów apoptozę, (c) nanocząstki srebra modyfikowane i niemodyfikowane kwasem taninowym wykazują immunotropizm, (d) potencjał immunostymulacyjny nanocząstek srebra zależy od ich wielkości, modyfikacji kwasem taninowym oraz od stopnia pobierania przez komórki, (e) nanocząstki srebra modyfikowane kwasem taninowym stymulują aktywację i dojrzewanie komórek dendrytycznych linii JAWS II silniej niż nanocząstki złota modyfikowane kwasem taninowym, (f) nanocząstki srebra nie penetrują bariery biologicznej jaką stanowi błona śluzowa pochwy, (g) nanocząstki srebra penetrują uszkodzoną skórę i ulegają akumulacji w komórkach o morfologii makrofagów i komórek dendrytycznych, małe rozmiary nanocząstek mogą wywoływać lokalne zapalenie.

Słowa kluczowe: nanocząstki srebra, nanocząstki złota, kwas taninowy, keratynocyty, fibroblasty, monocyty, komórki dendrytyczne, skóra

Summary

The skin is a multilayered surface of the body. It provides a barrier against mechanical, chemical and biological factors. Upon an injury, the skin barrier is disrupted, keratinocytes as well as monocytes undergo activation to ensure fast wound closure. Dendritic cells are the most effective antigen presenting cells (APCs) and are able to trigger adaptive immune response to pathogens invading the skin.

Silver nanoparticles (AgNPs) show antimicrobial and immunomodulatory properties. Combination of silver nanoparticles and tannic acid, the latter known for its anti-inflammatory and anti-microbial activity, gives a new promising wound healing agent. The present work characterizes *in vitro* and *in vivo* biological properties of tannic acid modified silver nanoparticles against cells present in the skin.

The aims of *in vitro* studies performed in keratinocyte, monocyte, fibroblast and dendritic cell lines were: (i) determination of the cytotoxicity levels induced by nanoparticles of different sizes, (ii) to estimate an influence of nanoparticles on the cells ultrastructure and (iii) to investigate the immunomodulatory properties against keratinocytes, fibroblasts, monocytes and dendritic cells cell cultures. During *in vivo* studies in mouse models, the following issues were investigated: (iv) local inflammatory response, (v) localization of nanoparticles in a skin wound and (vi) penetration through the intact mucous membrane. Based on our studies we conclude that (a) silver nanoparticles exhibit toxicity dependent on size, concentration, tannic modification and cell type, (b) toxic concentrations of silver nanoparticles promote necrosis in treated keratinocytes, monocytes and dendritic cells, and apoptosis in treated fibroblasts, (c) silver nanoparticles exhibit immunotropism resulting from intensive uptake by phagocytosing cells, (d) immunomodulatory properties of silver nanoparticles depend on their size, tannic acid modification and the uptake level, (e) silver nanoparticles modified with tannic acid are effective stimulators of JAWS II dendritic cell line, (f) silver nanoparticles are not able to penetrate vaginal mucous membrane, (g) silver nanoparticles penetrate through wounded skin and accumulate in cells with morphology of monocytes and dendritic cells where small nanoparticles may promote local inflammation.

Key words: silver nanoparticles, gold nanoparticles, tannic acid, keratinocytes, fibroblasts, monocytes, dendritic cells, skin tissue