OBSAH

Souhrn **7**

Summary **9**

1 Úvod **1**

2 Současný stav problematiky **3**

2.1 Fyziologické hojení kožní rány 3

2.1.1 Hemostáza 4

2.1.2 Zánětlivá fáze 5

2.1.3 Proliferační fáze 6

2.1.4 Remodelace (maturace) 7

2.1.5 Patologické hojení kožní rány 7

2.1.6 Bakteriální kontaminace 9

2.1.7 Nukleární faktor *kappa* B při zánětu a hojení 11

2.1.8 Transkripční faktor AP-1 při zánětu a hojení 18

2.1.9 Přístupy k léčbě kožních ran 21

2.1.10 Polyfenoly a hojení ran 22

2.1.11 Nanočástice stříbra a hojení ran 29

3 Cíle disertační práce **35**

4 Experimentální část **36**

4.1 Materiál a chemikálie 36

4.1.1 Chemikálie 36

4.1.2 Přístrojové vybavení 37

4.1.3 Ostatní laboratorní materiál 38

4.1.4 Roztoky pro práci s buněčnými kulturami 39

4.1.5 Testovaný materiál 40

4.1.6 Biologický materiál 41

4.2 Postup izolace a kultivace primárních kultur 41

4.2.1 Izolace NHEK 42

4.2.2 Izolace NHDF 43

4.3 Experimentální *in vitro* modely hojení ran se zánětem 43

4.3.1 Monovrstva škrábnutých kožních buněk NHDF 43

4.3.2 Trojrozměrný *in vitro* model RHE 44
4.4 Metody 46
4.4.1 MTT test 46
4.4.2 ELISA (enzymově značená imunovazebná analýza) 47
4.4.3 Western blot 47
4.4.4 Izolace RNA a reverzně transkriptázová polymerázová řetězová reakce v reálném čase (RT-qPCR) 48
4.4.5 Gelová retardační analýza (EMSA) 50
5 Výsledky 52
5.1 Cytotoxický profil analyzovaných přírodních látek 52
5.2 Vliv DHS, SB, KVE a IND na sekreci prozánětlivých cytokinů 53
5.3 Analýza předpokládaných cílových proteinů protizánětlivého působení DHS, SB, KVE a IND pomocí Western blotu 54
5.4 Účinek DHS, SB, KVE a IND na hladinu exprese mRNA prozánětlivých genů 57
5.5 Vliv DHS na hladinu mRNA IκBα 60
5.6 Analýza spolupůsobení DHS a LPS pomocí Western blotu 61
5.7 Vliv DHS na DNA-vazebnou aktivitu NF-κB 62
5.8 Využití *in vitro* 3D modelu RHE k analýze působení vybraných složek silymarinu na lidskou epidermis při zánětu 63
5.8.1 Stanovení prozánětlivých interleukinů metodou ELISA 64
5.8.2 Histologická analýza morfologických změn RHE 65
5.9 Využití *in vitro* 3D modelu RHE k analýze účinku AgNČ či Ag^+ při topické aplikaci 70
5.9.1 Charakterizace velikosti a rozložení AgNČ v experimentálním roztoku .. 70
5.9.2 Stanovení prozánětlivých interleukinů metodou ELISA 71
5.9.3 Histologická analýza morfologických změn RHE po aplikaci AgNČ a Ag^+ 73
6 Diskuse 75
7 Závěry 85
8 Seznam prací vztahujících se k disertaci 88
9 Literatura 90