

GABRIELA BUGLA-PŁOSKOŃSKA, ANNA LESZKIEWICZ

*Zakład Mikrobiologii  
Instytut Genetyki i Mikrobiologii  
Uniwersytet Wrocławski  
Przybyszewskiego 63/77, 51-124 Wrocław  
e-mail: gabi@microb.uni.wroc.pl*

## BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ SREBRA I JEGO ZASTOSOWANIE W MEDYCYNIE

Pierwsze dokumenty świadczące o wydobyciu i pozyskiwaniu srebra ze złóż do celów leczniczych i użytkowych pochodzą z Azji Mniejszej z 2500 r. p.n.e. Dowody archeologiczne z tego okresu wskazują, iż nasi przodkowie uzyskiwali srebro z galeny, tj. siarczku ołowiu, będącego minerałem srebrnośnym.

Dla alchemików srebro było uosobieniem Księżyca, a jego grecka nazwa *argyros* oznacza: biały i lśniący. Łacińskie określenie *argentum* zostało zaakceptowane przez chemię współczesną i funkcjonuje do dziś.

Srebro ze swych antybakteryjnych właściwości znane było już w starożytności. Antyczni Grecy, aby zapobiec szerzeniu się chorób pokrywali talerze i kubki srebrem, wrzucali srebrne monety do kan z wodą, aby przedłużyć czas jej przydatności do spożycia, podawali również dzieciom srebrne łyżeczki do ssania, co miało je chronić przed chorobami. Historyczne zapiski sugerują, iż pierwszym związkiem srebra zastosowanym w leczeniu był azotan srebra, zwany już wówczas lapisem. Prawdopodobnie odkrył go żyjący w XV w. szwajcarski mnich Basilius Valentinus. Natomiast pierwszą wzmiankę naukową o lapisie zanotowano w publikacji „The Surgions Mate” John’a Woodall’a z 1617 r. Książka ta stanowiła praktyczny poradnik dla chirurgów okrętowych i sugerowała stosowanie związku o zamienniej nazwie „*lapis infernalis*” bądź „*lapis causticus*” do otwierania wrzodów, leczenia ran i wysypek. Jak się później okazało słowo „*lapis*” niekoniecznie musiało odnosić się do czystego azotanu srebra (*lapis infernalis*), gdyż leczenie w tamtych czasach

takim związkiem było raczej niemożliwe ze względu na jego wysoką cenę. Prawdopodobnie chirurdzy okrętowi używali białego, krystalicznego preparatu, zawierającego azotan srebra, kwas solny i chlorek sodu lub chlorek potasu, czyli tzw. „*lapis causticus*” aż do 1772 r. W 1724 r. wskazano na różnice w stosowaniu pomiędzy „*lapis causticus*” a „*lapis infernalis*”. Ten pierwszy polecano zamiast skalpela do otwierania wrzodów u dzieci lub dorosłych. Drugi natomiast, czysty azotan srebra, polecano do leczenia brodawek i wrzodów oraz chorób wenerycznych. W 1775 r. Girard zaproponował użycie azotanu srebra do leczenia trądu, a jego skuteczność w leczeniu chorób wenerycznych potwierdził licznymi badaniami J. K. Proksch w 1895 r. (KLASEN 2000a). W XIX w. po raz pierwszy zastosowano 0,2% roztwór  $\text{AgNO}_3$  do leczenia oparzeń. W 1874 r. T. Billroth udowodnił silne antyseptyczne właściwości srebra wobec mikroorganizmów, stosując go wobec gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*). Niedługo po tym wydarzeniu potwierdzono antybakteryjne właściwości srebra wobec bakterii z rodzaju *Streptococcus*, *Pseudomonas* i *Escherichia* (KLASEN 2000b). W XIX w. w Niemczech wykazano również, iż łagodny roztwór srebra działa odkażająco w przypadku zapalenia spojówek, a jednocześnie nie podrażnia śluzówki oka. W latach 40. XX w. pojawił się inny środek leczniczy zawierający srebro – sól srebrowa sulfadiazyny, wykorzystywana wówczas do leczenia ran w czasie wojny. W latach 70. XX w. doktor Carl Mayer opracował nowe metody leczenia ofiar oparzeń. W kilku niezależnych źró-

dłach znalazł informacje o blokowaniu aktywności enzymów oddechowych w komórkach chorobotwórczych mikroorganizmów przez jony srebra. Zastosował więc srebro w leczeniu jako środek stymulujący gojenie skóry i innych tkanek miękkich. W latach 90. XX w. naukowcy zauważyli, że osoby, u których występuje niski poziom srebra jako pierwiastka śladowego, często chorują na choroby o etiologii wirusowej, bakteryjnej oraz grzybiczej (SILVER 2003). Jednak nadmiar srebra wprowadzany do organizmu może prowadzić do nekrozy tkanek wątroby, a zwiększona jego zawartość w pożywieniu powoduje u człowieka przebarwienia skóry i błon śluzowych w postaci niebieskoszarych plamek (tzw. argyria) (KABATA-PENDIAS i PENDIAS 1993). BOSETTI i współaut. (2002) w swoich badaniach

dowodzą braku toksycznego wpływu srebra na komórki ludzkie (tj. limfocyty, fibroblasty i osteoblasty), a nawet twierdzą, że metal ten pobudza komórki kościotwórcze (osteoblasty) do wzmożonej aktywności. Argument ów dodatkowo budzi zainteresowanie srebrem jako czynnikiem nadającym się do użytku medycznego. Jak wskazują jednak inni badacze bezpieczeństwo stosowania srebra jest ograniczone. Prawdopodobnie koncentracja jonów srebra w płynach ustrojowych powyżej 10 mg/l może być toksyczna dla pewnych makromolekuł obecnych w ludzkim organizmie (SCHIERHOLZ i współaut. 1998).

Omówione wybrane właściwości srebra okazują się istotne podczas doboru odpowiedniego nośnika dla jonów srebra, a następnie jego skuteczności wobec patogenów.

#### POBIERANIE JONÓW METALI CIĘŻKICH PRZEZ KOMÓRKI DROBNOUSTROJÓW I ICH ODDZIAŁYWANIE Z ELEMENTAMI BUDOWY KOMÓREK

Metale ciężkie (żelazo, miedź, cynk, mangan, srebro i inne) w zbyt wysokich stężeniach oddziałują toksycznie nie tylko na komórki organizmów wyższych, ale także hamują aktywność metaboliczną komórek drobnoustrojów. Jednak wiele metali ciężkich zaliczanych jest do grupy tzw. pierwiastków śladowych, niezbędnych do wzrostu i prawidłowego przebiegu metabolizmu komórkowego, w którym istotną rolę odgrywają tzw. metalozależne enzymy: nitrogenaza (Mo/Fe), cytochrom (Fe) czy dysmutaza (Fe, Mn, Cu, Zn). Drobnoustroje mają zdolność do pobierania jonów tych metali ze środowiska i ich akumulowania w komórkach. Metale te katalizują reakcje biochemiczne i wykorzystywane są do syntezy enzymów czy kwasów nukleinowych. Jednak, gdy ich stężenie przekroczy określony poziom, mogą wówczas oddziaływać toksycznie lub zakłócać przyswajanie innych pierwiastków.

Obecność metali ciężkich w komórkach może powodować:

- zmiany konformacyjne w cząsteczkach białek,
- zaburzenie w przebiegu reakcji metabolicznych poprzez blokowanie grup funkcyjnych enzymów niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania metabolizmu,
- hamowanie akumulacji fosforanu we wnętrzu komórek bakterii,
- utrudnianie wymiany jonowej ze środowiskiem zewnętrznym,

– wpływ z komórki ważnych dla mikroorganizmu metabolitów, takich jak: bursztynian, mannitol, prolina, czy glutamina (ENNEVER 1994, EHRLICH 1997, DIBROV i współaut. 2002, SŁABA i DEUGOŃSKI 2002).

Efekt toksyczności metali ciężkich zależy od formy w jakiej są one dostępne dla komórki mikroorganizmu, czy jest to jon czy postać organiczna (ENNEVER 1994).

Drobnoustroje mogą posiadać kilka mechanizmów umożliwiających pobieranie jonów metali do komórki, często działających równocześnie. U większości mikroorganizmów jednak występują dwa typy systemu transportu jonów metali ciężkich do komórki:

1. System oparty na tworzeniu gradientu chemiosmotycznego w poprzek błony cytoplazmatycznej. System ten ma charakter konstytucyjny i charakteryzuje się brakiem specyficzności w stosunku do substratów, zachodzi jednak z dużą szybkością. W obrębie tego systemu takie kationy jak:  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  i inne są transportowane do wnętrza komórek drobnoustrojów.

2. System transportu jonów metali specyficzny substratowo, wolniejszy i wymagający źródła energii w postaci ATP.

Ponadto jony metali mogą być również przenoszone w postaci kompleksów ze specyficznymi ligandami – sideroforami, czyli niskocząsteczkowymi związkami chelatującymi wytwarzanymi przez bakterie.

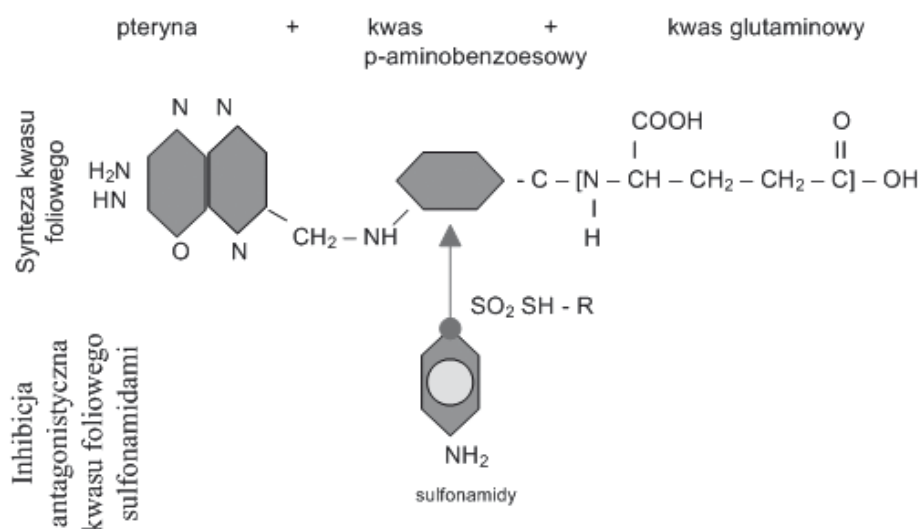
W komórkach bakterii Gram-dodatnich grupy karboksylowe kwasu glutaminowego i grupy fosfodiestrowe kwasów tejchojowych w peptydoglikanie są postrzegane jako najbardziej odpowiedzialne za wiązanie jonów metali (SŁABA i DEUGOŃSKI 2002). Z kolei, u bakterii Gram-ujemnych występuje błona zewnętrzna i błona cytoplazmatyczna, które różnią się pod względem składu chemicznego, a także cienka warstwa peptydoglikanu znajdująca się między nimi. Badania komórek *Escherichia coli* K-12 wykazały, że odkładanie metali ciężkich następowało w obszarze wyżej wymienionych struktur zewnętrznych, w miejscach posiadających grupy polarne lub wzdłuż peptydoglikanu. Jony metalu reagowały głównie z grupami polarnymi fosfolipidów oraz dostępnymi miejscami anionowymi lipopolisacharydów i grupami kwasowymi łańcuchów polipeptydowych (CHMIEŁOWSKI i KŁAPCIŃSKA 1984).

Srebro posiada szerokie spektrum działania zarówno wobec komórek bakterii Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych, w tym gatunków tlenowych oraz beztlenowych (SAGRIPANTI 1992). Kationy  $Ag^+$  oddziałują elektrostatycznie z komórkami bakterii, naładowanymi z natury ujemnie (ATIYEH i współaut. 2007). Głównym miejscem oddziaływania srebra są komórkowe białka strukturalne i białka enzymatyczne, czyli związki pełniące fundamentalną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu mikroorganizmu (OVINGTON 2004). Możemy tutaj wyróżnić enzymy oddechowe, tj. oksydazę cytochromową czy NADH – dehydrogenazę bursztynianową (SAMUEL i GUGGENBICHLER 2004).

Srebro silnie wiąże się z aminokwasami, poprzez grupy tiolowe (-SH), aminowe (-NH<sub>2</sub>), karboksylowe (-COOH), imidazolowe (-C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>) oraz fosforanowe (-PO<sub>4</sub>) (RUSSEL i HUGO 1994). Aminokwasem kluczowym w procesie wiązania srebra jest cysteina. W konsekwencji tego ważne dla szlaków metabolicznych białka ulegają denaturacji, tracąc swą biologiczną aktywność. Ostatecznie patogen przestaje prawidłowo funkcjonować i ginie (PERCIVAL i współaut. 2005). Jeśli srebro przedostanie się do wnętrza komórki mikroorganizmu, reaguje z kwasami nukleinowymi (SCHIERHOLZ i współaut. 1998).  $Ag^+$  interkaluje z DNA, co hamuje proces replikacji (HAMILTON-MILLER i współaut. 1996, SCHIERHOLZ i współaut. 1998, OVINGTON 2004, SAMUEL i GUGGENBICHLE 2004, COVINGTON 2006).

Jony srebra mają zdolność wiązania się ze ścianą komórkową bakterii, cytoplazmą czy też otoczką. Niskie stężenia jonów  $Ag^+$  indukują zwiększony wypływ protonów przez błonę cytoplazmatyczną bakterii, prowadząc do całkowitej dezorganizacji tej struktury i ostatecznie do śmierci komórki. Aktywność przeciwbakteryjna jonów srebrnych jest wprost proporcjonalna do stężeń jonów  $Ag^+$  w środowisku.

W przypadku, gdy związek srebra działający na komórki bakterii jest złożony ze srebra i jakiegoś preparatu leczniczego, można spodziewać się synergistycznego działania obu składników. Dobrym przykładem obrazującym takie współdziałanie jest sulfadiazyna srebra, zawierająca m.in. pochodne kwasu sulfanilowego, które hamują kompetytywnie



Ryc. 1. Schemat syntezy kwasu foliowego i jego inhibicji sulfonamidami.

syntezę kwasu foliowego (Ryc. 1). W konsekwencji brakuje półproduktu do syntezy *de*

*novo* kwasu nukleinowego (TAYLOR i WEINBERG 2003).

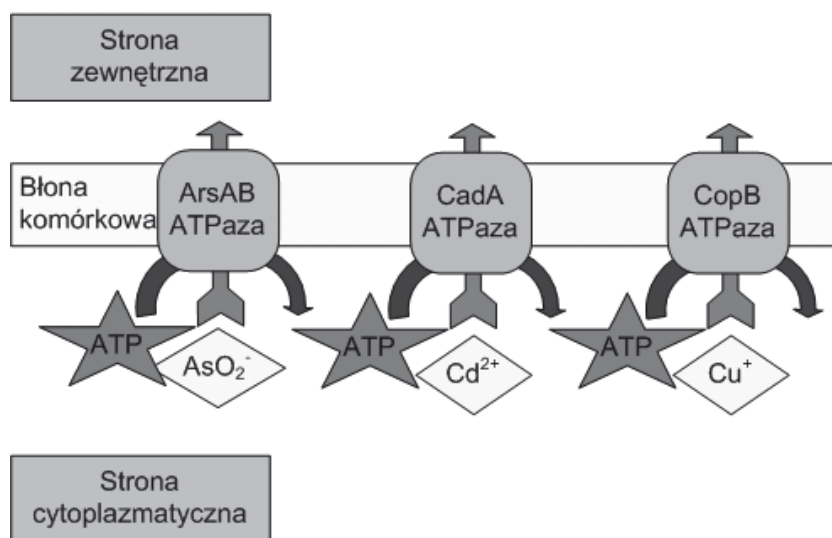
### OPORNOŚĆ MIKROORGANIZMÓW NA JONY SREBRA I INNYCH CIĘŻKICH METALI

Geny decydujące o oporności mikroorganizmów na metale ciężkie zlokalizowane są głównie na plazmidach (tzw. czynnik R) (ROSEN 1996). Oporność na metale ciężkie sporadycznie może być również kodowana przez geny zlokalizowane na chromosomie (SILVER 1996). Najważniejszym mechanizmem zmniejszonej tolerancji drobnoustrojów na metale ciężkie są wysoce wyspecjalizowane procesy enzymatyczne, zapobiegające gromadzeniu się toksycznego czynnika w komórce bakterii. W energo-zależnym wpływie kationów do przestrzeni zewnątrzkomórkowej uczestniczą białka-transportery (SILVER 2003).

Inną formą oporności komórek drobnoustrojów na metale ciężkie jest redukcja pierwiastka do jego mniej toksycznej dla komórki formy, a także aktywny wyrzut jego jonów poza komórkę, bądź wyrzut na zasadzie chemiosmotycznego uniportu, czy antyportu (Ryc. 2A, B) (ROSEN 1996, SILVER 2003).

Dowód kliniczny na występowanie komórek bakterii opornych na jony srebra znaleziono w szpitalach, gdzie sole srebra: sulfadiazyna i azotan srebra używane są powszechnie jako związki antyseptyczne w leczeniu oparzeń (SILVER 2003). Można stwierdzić, że szeroko stosowane, niekontrolowane użycie srebra może doprowadzić do wykształcenia się powszechnej oporności bakterii na srebro. Jednakże prawdopodobieństwo wytworzenia tej oporności jest niskie. Z opornością na jony srebra wiąże się występowanie w komórkach drobnoustrojów, np. z rodzaju *Citrobacter sp.* czy u *Pseudomonas stutzeri*, pewnych plazmidów. Komórki bakterii z plazmidami oporności na srebro gromadzą mniejsze ilości jonów srebrnych niż szczepy nie zawierające tych plazmidów. Zidentyfikowano plazmid pMG101 niosący geny oporności na antybiotyki i metale ciężkie (m.in. jony srebra) w komórkach szczepów *Salmonella*, wyizolowanych u pacjentów z posocznicą, przebywających na oddziale oparzeń. Plazmid pMG101 jest zdolny do kodowania dużej liczby białek plazmatycznych wiążących jony srebra. Analiza genetyczna regionu odpowiedzialnego za zwiększoną oporność na srebro wykazała, że obszar genowy odpowiedzialny za wytworzenie oporności na srebro zawiera dziewięć genów. Obniżoną wrażliwość na jony  $Ag^+$  zapewniają komórkom *Salmonella sp.* trzy rodzaje białek: SilP, SilE i SilCBA, których funkcje są związane z aktywnym wyrzutem jonów, wiązaniem jonów metalu przez peryplazmatyczne białko oraz chemiosmotycznym wpływem jonów (GUPTA i współaut. 1999). Badania laboratoryjne dostarczyły dowodów na to, że transfer plazmidu pMG101 do komórek *E. coli* nadaje komórce cechę oporności na  $Ag^+$ , sześciokrotnie przekraczającą wartość stężenia tolerowa-

nia tej oporności jest niskie. Z opornością na jony srebra wiąże się występowanie w komórkach drobnoustrojów, np. z rodzaju *Citrobacter sp.* czy u *Pseudomonas stutzeri*, pewnych plazmidów. Komórki bakterii z plazmidami oporności na srebro gromadzą mniejsze ilości jonów srebrnych niż szczepy nie zawierające tych plazmidów. Zidentyfikowano plazmid pMG101 niosący geny oporności na antybiotyki i metale ciężkie (m.in. jony srebra) w komórkach szczepów *Salmonella*, wyizolowanych u pacjentów z posocznicą, przebywających na oddziale oparzeń. Plazmid pMG101 jest zdolny do kodowania dużej liczby białek plazmatycznych wiążących jony srebra. Analiza genetyczna regionu odpowiedzialnego za zwiększoną oporność na srebro wykazała, że obszar genowy odpowiedzialny za wytworzenie oporności na srebro zawiera dziewięć genów. Obniżoną wrażliwość na jony  $Ag^+$  zapewniają komórkom *Salmonella sp.* trzy rodzaje białek: SilP, SilE i SilCBA, których funkcje są związane z aktywnym wyrzutem jonów, wiązaniem jonów metalu przez peryplazmatyczne białko oraz chemiosmotycznym wpływem jonów (GUPTA i współaut. 1999). Badania laboratoryjne dostarczyły dowodów na to, że transfer plazmidu pMG101 do komórek *E. coli* nadaje komórce cechę oporności na  $Ag^+$ , sześciokrotnie przekraczającą wartość stężenia tolerowa-



Ryc. 2A. Przykład systemu aktywnego wyrzutu jonów poza komórkę.

nego przez tę bakterię (PERCIVAL i współaut. 2005). Jak dotąd nie stwierdzono oporności na jony  $\text{Ag}^+$  u szczepów bakterii Gram-dodatnich, prawdopodobnie jest to związane z brakiem u tych bakterii białek porynowych oraz z obecnością grubej warstwy mureiny. Badania wskazują, iż mutanty bakterii Gram-ujemnych pozbawione białek porynowych wykazują zmniejszoną wrażliwość na srebro (LI i współaut. 1997).

Powszechne wykorzystywanie jonów srebrnych w leczeniu ran stwarza pewne obawy dotyczące pojawienia się cechy oporności komórek bakterii na ten pierwiastek, aczkolwiek w odróżnieniu od antybiotyków oporność na związki srebra jest sporadyczna. W obliczu plejotropowego działania srebra na

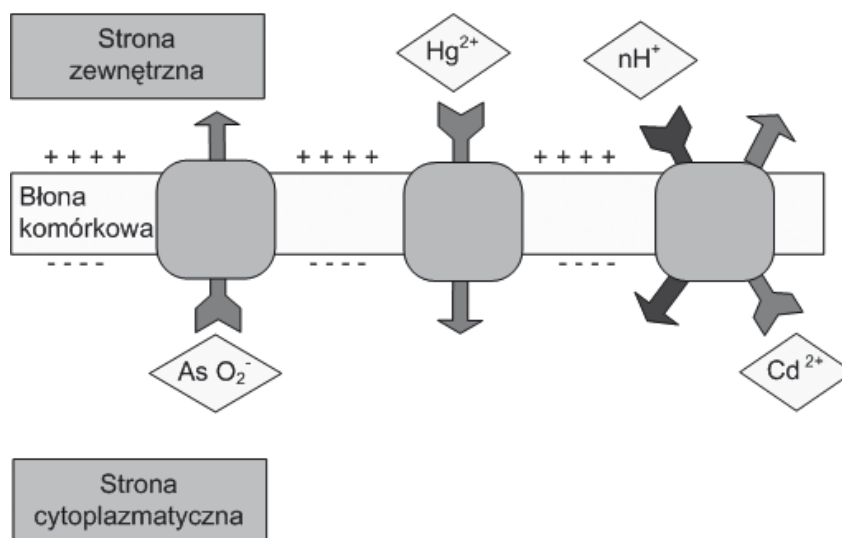
mikroorganizmy, w przeciwieństwie do konkretnego, specyficznego działania antybiotyków, komórka bakterii okazuje się bezbronna. W literaturze znajdują się doniesienia o pojedynczych, sporadycznych przypadkach oporności na kationy  $\text{Ag}^+$  wśród szczepów klinicznych, będących wynikiem długoterminowego stosowania sulfadiazyny srebra. Szacuje się prawdopodobieństwo pojawienia oporności na srebro w proporcji 1:1012 przypadków (COVINGTON 2006). Oporność na antybiotyki rozpowszechniła się w przeciągu 60 lat ich użytkowania, ale skoro srebro cechuje dużo dłuższy okres stosowania, możemy być chyba spokojni o bezpieczne wykorzystanie jego antibakteryjnych właściwości w preparatach farmaceutycznych.

### ZWIĄZKI SREBRA O DZIAŁANIU ANTYBAKTERYJNYM

Jednym z najstarszych medykamentów używanych nadal w lecznictwie jest azotan srebra. Historia jego oficjalnego wprowadzenia na listę środków stosowanych przez służbę zdrowia sięga drugiej połowy XIX w. (BRETT 2006). Związek ten stosowany jest obecnie przeciwko szerokiemu spektrum mikroorganizmów, głównie do odkażania oczu u noworodków, ale specyficznie także przeciwko patogenom z rodzaju *Neisseria* oraz *Pseudomonas*. Azotan srebra stosowany jest w stężeniach od 0,01–10%. W rozcieńczeniu 0,01 % działa umiarkowanie przeciwbakteryjnie i ściągająco, i w tym stężeniu może być stosowany na błony śluzowe. W stężeniu 0,1% zabija większość komórek drobnoustro-

jów. Roztwór 5% azotanu srebra jest stosowany z powodzeniem jako środek odkażający w rozległych oparzeniach. Rozcieńczone roztwory azotanu srebra pobudzają ziarninowanie trudno gojących się ran (JANIEC 2001).

Preparatem o szerokim spektrum zastosowań w medycynie jest sulfadiazyna srebra, a także kompleksy srebra z lekami z grupy sulfonamidów, które wykazują aktywność wobec licznych gatunków bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich (Ruutu i współaut. 1985). Sulfadiazyna srebra służy do odkażania ran pooperacyjnych, wrzodów i oparzeń. Występuje pod postacią maści, kremów i żeli (PERCIVAL i współaut. 2005). W porównaniu z azotanem srebra, przejawia on większą sku-



Ryc. 2B. Przykłady chemiosmotycznego wpływu jonów metali (uniport, antyport).

teczność wobec mikroorganizmów, ze względu na powolne uwalnianie aktywnych kationów srebra, co zapobiega tworzeniu nieefektywnych biologicznie aglomeratów srebra (SCHIERHOLZ i współaut. 1998).

Aktualnie na rynku farmaceutycznym znaleźć można również srebro koloidalne, zwane „naturalnym antybiotykiem”, stosowane m.in. do zwalczania egzem, wysypek, łuszczyc czy trądziku. Zupełną nowością pośród medykamentów opartych na bazie srebra są immobilizowane nanoformy srebra. Preparaty srebra związane z nośnikiem krzemionkowym leżą u podstaw nowatorskiej dziedziny nauki zwanej nanotechnologią. Nanotechnologia daje możliwość maksymalnego zwiększenia powierzchni cząstek aktywnych, poprzez zlokalizowanie molekuł (najczęściej metali) na nośniku niemetalicznym, np.  $\text{SiO}_2$  (PIKE-BIEGUNSKI 2005).

Zainteresowanie srebrem ze względu na jego antybakteryjne właściwości stale rośnie. Srebro to pierwiastek śladowy niezbędny do prawidłowego funkcjonowania ludzkiego organizmu. Niedobór jonów srebra w organizmie człowieka objawia się zwiększoną podatnością na infekcje, związaną z obniżoną odpornością immunologiczną. W porównaniu z innymi metalami ciężkimi i ich właściwościami antybakteryjnymi srebro jest użyteczne nie tylko w medycynie, ale także w innych dziedzinach życia (HAMILTON-MILLER i współaut. 1996). Wielkimi krokami wkracza do kosmologii, gdzie dodane do kremów, maści i innych preparatów ma za zadanie wspomagać terapię przeciwtrądzikową. Farmaceuci pokładają również dużą nadzieję w srebrem jako suplemencie diety. W ofercie handlowej pojawiła się cała paleta suplementów diety opartych na bazie srebra koloidalnego, które zostało uznane za naturalną substancję antybiotyczną stosowaną zarówno w profilaktyce, jak i leczeniu zakażeń. Ulotki informują o braku efektów ubocznych i wysokiej skuteczności przeciwgrzybiczej, przeciwwirusowej i antybakteryjnej takich preparatów srebrowych. Srebro znalazło zastosowanie także w stomatologii. Współtworzy aż w 35% plombę amalgamatową. Co prawda współczesny rozwój technik wypiera z rynku ten materiał dentystyczny, jednak nie można zapominać o dużym znaczeniu srebra w tej, tak istotnej dziedzinie (SILVER 2003, BRETT 2006, KLASSEN 2000b). Antybakteryjne właściwości jonów srebra znalazły zastosowanie w zwalczaniu pooperacyjnych zakażeń układu moczowo-płciowego, wywoływanych naj-

częściej przez szczepy z rodzaju *Escherichia* (27%), *Enterococcus* (22%), *Proteus* (17%), *Coliforms* (12%) i *Pseudomonas* (11%) (WAZAIT i współaut. 2003). Od niespełna dziesięciu lat naukowcy uparcie dążą do takich modyfikacji procedur i technik leczenia, które pozwolą zmniejszyć infekcje bakteryjne u osób cewnikowanych. Szansę upatruje się w cewnikach z integralnie wbudowanym aktywnym srebrem. Niestety dotychczasowe wyniki nie spełniają oczekiwań. Jak wskazują badania *in vitro*, cewniki te wymagają dopracowania sposobu lokalizacji preparatu srebra i ilości uwalnianych kationów (DAVENPORT i KEELEY 2005).

Sprzymierzeńca w srebrem upatruje także ortopedia. Badania *in vitro* przeprowadzone przez BOSETTI i współaut. (2002) dowodzą zwiększonej skuteczności implantów zawierających srebro, stosowanych przy złamaniach czy też stłuczeniach. Implanty zawierające srebro zapobiegają adhezji bakterii na obcych elementach wprowadzonych do makroorganizmu oraz pozytywnie wpływają na aktywność osteoblastów.

Wobec tego, iż rany stanowią łatwe do kolonizacji środowisko dla patogenów, wzrasta zainteresowanie preparatami umożliwiającymi pokonanie tego niebezpieczeństwa. Naukowcy kładą nacisk na rozwój materiałów opatrunkowych (gazy, bandaży itp.) pokrytych bądź impregnowanych związkami srebra. Na rynku istnieje już kilka dostępnych kompresów na bazie srebra, pod handlowymi nazwami m.in. Contreet H, SilverCel, Aquacell Ag. Jako przykład może posłużyć kompres Aquacell Ag, który skutecznie uwalnia bioaktywne kationy  $\text{Ag}^+$  pod wpływem płynu wysiękowego z rany. Badania *in vitro* wykazują jego zadowalającą skuteczność wobec bakterii Gram-dodatnich, przede wszystkim *Staphylococcus aureus*, oraz szczepów bakterii Gram-ujemnych, z przedstawicielem gatunku *Pseudomonas aeruginosa* na czele. Kompres Aquacell Ag wykazuje wyraźną skuteczność już po 30 min od chwili kontaktu z bakteriami. Niestety wadą dotychczas „skonstruowanych” opatrunków jest ich ograniczony czas działania, który wynosi do dwóch godzin (OVINGTON 2004, KAŹMIERSKI i współaut. 2005).

Pomocne w tworzeniu nowych materiałów mogą okazać się immobilizowane preparaty srebra, czyli srebro umieszczone na nośniku krzemionkowym, który pozwala na maksymalne rozwinięcie powierzchni cząstek aktywnych oraz chroni srebro przed tworze-

niem agregatów pomiędzy własnymi atomami. Nanoproszki krzemionkowe z wyspami srebra otrzymywane są metodą Stöber'a w procesie zol-żel (BRINKER i SCHERER 1990).

Otrzymanie nanoproszków jest procesem trój etapowym, złożonym z hydrolizy, żelowania i suszenia oraz wypalania. Prekursorem nośnika jest tetraetylokrzemian (TEOS), a jako związek wyjściowy do otrzymania srebra służy azotan srebra. Reakcja przebiega w środowisku wodnym, w obecności katalizatora ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) (JASIOŃSKI i współaut. 2002, JASIOŃSKI 2003). W efekcie powstają kulki krzemionkowe o średnicy około 400-600 nm. Na ich powierzchni znajdują się atomy srebra na zerowym stopniu utlenienia, o średnicy ok. 20 nm (JASIOŃSKI i współaut. 2002).

Medyczne stosowanie srebra jest bardzo powszechne, należy jednak pamiętać, iż długotrwałe wystawienie na jego działanie może wywołać srebrycę (argyria), czyli łagodnie, trwale niebieskawo-szare odbarwienie skóry,

spowodowane gromadzącymi się w organizmie złogami srebra. Przewlekłe medyczne lub przemysłowe narażenie na kontakt ze srebrem może powodować choroby nerek, wątroby oraz stwardnienie tętnic, a odkładanie się srebra w oczodołach może wpływać na zaburzenia wzroku. Amerykańska Konferencja Rządowych Higienistów Przemysłowych (ACGIH) zaakceptowała wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia dla srebra: 0,1 mg/m<sup>3</sup> w przypadku metalu oraz 0,01 mg/m<sup>3</sup> dla związków rozpuszczalnych srebra. W oparciu o badania dające wynik negatywny, a przeprowadzone głównie na zwierzętach, oraz przy braku jakichkolwiek doniesień odnośnie rakotwórczości u ludzi, organizacja United States Environmental Protection Agency (USEPA) sklasyfikowała srebro jako kancerogen grupy D, czyli niesklasyfikowany jako rakotwórczy dla człowieka (ENNEVER 1994).

## BIOLOGICAL ACTIVITY OF SILVER AND ITS MEDICAL APPLICATION

### Summary

Silver has been known from their bactericidal property since the ancient time. Silver preparations in medicine were used for treatment of burns, as bandage for trauma and diabetic wounds, as silver-coated catheters, and in medical devices. This metal has been shown able to kill over 650 disease-causing

bacteria, viruses, fungi and parasites. Silver is toxic to pathogen cells because it interferes with metabolic enzymes and DNA replication. The broad usage of silver is due both to its high bactericidal activity and low toxicity to the human organism.

### LITERATURA

- ATIYEH B. S., COSTAGLIOLA M., HAYEK S. N., DIBO S. A., 2007. *Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature*. Burns 33, 139-148.
- BOSETTI M., MASSE A., TOBIN E., CANNAS M., 2002. *Silver coated materials for external fixation devices; in vitro biocompatibility and genotoxicity*. Biomaterials 23, 887-892.
- BRETT D. W., 2006. *A discussion of silver as an antimicrobial agent: alleviating the confusion*. Ostomy Wound Manage. 52, 34-41.
- BRINKER C. J., SCHERER G. W., 1990. *Sol-Gel Science*. London. Academic Press, INC.
- CHMIEŁOWSKI J., KLAPCINSKA B., 1984. *Mechanizmy pobierania metali przez drobnoustroje*. Postępy Mikrobiol. 23, 63-88.
- COVINGTON L. G., 2006. *Engineering out the risk of infection with urinary catheters*. Infection Control Resource 3, 200-211.
- DAVENPORT K., KEELEY F. X., 2005. *Evidence for the use of silver-alloy-coated urethral catheters*. J. Hosp. Infec. 60, 298-303.
- DIBROV P., DZIUBA J., GOSINK K. K., HÖSE C. C., 2002. *Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag<sup>+</sup> in Vibrio cholerae*. Antimicrob. Agents Chemother. 8, 2668-2670.
- EHRlich H. L., 1997. *Microbes and metals*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 48, 687-692.
- ENNEVER F. K., 1994. *Metals. Principles and Methods of Toxicology*. Raven Press New York, Wyd. III, 12, 417-446.
- GUPTA A., MATSUI K., LO J. F., SILVER S., 1999. *Molecular basis for resistance to silver cations in Salmonella*. Nature Med. 5, 183-188.
- HAMILTON-MILLER J. M. T., SHAH S., 1996. *A microbiological assessment of silver fusidate, a novel topical antimicrobial agent*. Int. J. Antimicrob. Agents 7, 97-99.
- JANIEC W., 2001. *Kompendium farmakologii*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa
- JASIOŃSKI M., 2003. *Synteza i spektroskopowe właściwości szkieł kwarcowych aktywowanych molekułami organicznymi i nieorganicznymi, otrzymanych metodą zol-żel*. Rozprawa doktorska. Zakład Spektroskopii Stanów Wzbudzonych IN-TiBS PAN.
- JASIOŃSKI M., MARUSZEWSKI K., STREK W., 2002. *Optical behaviour of sol-gel derived photonic structures formed by submicron silica spheres*. Mater. Sci. 20, 51-56.
- KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H., 1993. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.

- KAŹMIERSKI M., PUCHAŁA J., CHRAPUSTA-KLIMECZEK A., MAŃKOWSKI P., JANKOWSKI A. 2005. *Ocena skuteczności opatrunku typu hydrowłóknistego z dodatkiem srebra jonowego AQUACEL Ag® w miejscowym leczeniu oparzeń*. *Klinika Zakażeń* 2, 108–113.
- KLASEN H. J., 2000a. *Historical review of the use of silver in the treatment of burns. Early uses*. *Burns* 26, 117–130.
- KLASEN H. J., 2000b. *Historical review of the use of silver in the treatment of burns. Renewed interest for silver*. *Burns* 26, 130–138.
- LI X. Z., NIKAIDO H., WILLIAMS K. E., 1997. *Silver resistance mutants of Escherichia coli display active efflux Ag<sup>+</sup> and are deficient in porins*. *J. Bacteriol.* 19, 6127–6132.
- OVINGTON L. G., 2004. *The truth about silver*. *Ostomy Wound Manage.* 50, 1–10.
- PERCIVAL S. L., BOWLER P. G., RUSSEL D., 2005. *Bacterial resistance to silver in wound care*. *J. Hosp. Infect.* 60, 1–7.
- PIKE-BIEGUNSKI M. J., 2005. *Nanotechnologia w medycynie i farmacji*. *Lek w Polsce* 15, 30–37.
- ROSEN B. P., 1996. *Bacterial resistance to heavy metals and metalloids*. *J. Biol. Inorg. Chem.* 1, 273–277.
- RUSSEL A. D., HUGO W. B., 1994. *Antimicrobial activity and action of silver*. *Prog. Med. Chem.* 31, 351–370.
- RUUTU M., ALFTHAN O., TALJA M., ANDRESSON L. C., 1985. *Cytotoxicity of latex urinary catheters*. *Br. J. Urol.* 57, 82–87.
- SAGRIPANTI J. L., 1992. *Metal based formulation with high microbial activity*. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3157–3162.
- SAMUEL U., GUGGENBICHLER J. P., 2004. *Prevention of catheter-related infection: the potential of a new nano-silver impregnated catheter*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 23S1, 75–78.
- SCHIERHOLZ J. M., LUCAS L. J., RUMP A., PULVERER G., 1998. *Efficacy of silver-coated medical devices*. *J. Hosp. Infect.* 40, 257–262.
- SILVER S., 1996. *Bacterial heavy metal resistance: new surprises*. *Ann. Rev. Microbiol.* 50, 753–89.
- SILVER S., 2003. *Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds*. *FEMS Microbiol. Rev.* 27, 341–353.
- SŁABA M., DŁUGOŃSKI J., 2002. *Mikrobiologiczne usuwanie i odzyskiwanie metali ciężkich*. *Post. Mikrobiol.* 41, 167–183.
- TAYLOR S. C., WEINBERG J. M., 2003. *Topical antimicrobial agent in dermatology*. *Clin. Dermatol.* 21, 70–77.
- WAZAIT H. D., PATEL H. R. H., VEER V., 2003. *Catheter associated urinary tract infections: prevalence of uropathogens and pattern of antimicrobial resistance in a UK hospital (1996–2001)*. *Br. J. Urol.* 91, 806–809.