

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra organické a bioorganické chemie

Kandidát: Linda Svatošová

Školitel: PharmDr. Lukáš Opálka, Ph.D.

Název diplomové práce: Studium modelových lipidových membrán obsahujících omega-hydroxylované ceramidy

Acylceramidy (EO-Cer) jsou třídou ceramidů (Cer) s ultradlouhým acylovým řetězcem, na jejichž  $\omega$ -hydroxylovou skupinu je esterově navázána kyselina linolová. EO-Cer, jejichž význam spočívá ve tvorbě dlouhé lamelární fáze (LPP) a korneocytální lipidové obálky (CLE), jsou nepostradatelnou složkou pro fungování kůže jako bariéry. Porucha biosyntézy EO-Cer spojená s nedostatečnou tvorbou CLE a LPP je základem patofyziologie mnoha kožních onemocnění, včetně některých typů ichtyózy. Jedním z enzymů, k jehož deficitu u těchto ichtyóz dochází, je PNPLA1. Při jeho nedostatečné funkci nedochází k  $\omega$ -esterifikaci kyselinou linolovou, a tedy ke vzniku EO-Cer, ale naopak dochází ke kumulaci jejich prekurzorů, tedy  $\omega$ -hydroxylovaných ceramidů (O-Cer).

Cílem této práce bylo připravit modelové membrány s obsahem O-Cer a sledovat, jak jejich přítomnost ovlivňuje organizaci lipidů a bariérové vlastnosti modelových membrán. V rámci této práce byly připraveny dva typy membrán – prvním typem byly membrány složené ze směsi cholesterolu, mastných kyselin a velmi dlouhých Cer s nefyziologicky zvýšenou koncentrací EO a O-Cer, kvůli lepšímu pochopení vlivu těchto ultradlouhých lipidů, a druhým typem byly membrány s obsahem EO a O-Cer v koncentracích, které více odpovídají fyziologickým hodnotám. Mimo to byl sledován i vliv teploty, při které byly membrány připraveny.

U membrán s nefyziologicky zvýšeným obsahem EO a O-Cer, které byly připravovány při 90 °C, přidání O-Cer do membrán vedlo, až na výjimky, ke zlepšení bariérových vlastností. Veškeré takto připravené membrány tvořily mimo krátké lamelární fáze (SPP) a separovaného cholesterolu i LPP. Pokud byly ovšem veškeré

EO-Cer v membránách nahrazeny za O-Cer, tak došlo k výraznému narušení bariérových vlastností membrán a flux modelových léčiv se zvýšil na téměř trojnásobek. Důvodem zvýšení permeability membrán by mohla být nepřítomnost LPP, která byla nahrazena v těchto vzorcích jinou lamelární fází s krátkou periodicitou. Snížení teploty při přípravě vzorků na 70 °C mělo zásadní vliv na lamelární uspořádání membrán. Membrány s obsahem EO-Cer, ke kterým byly přidávány O-Cer nebo byla koncentrace EO-Cer dále zvyšována, obsahovaly pouze LPP (a separovaný cholesterol). Oproti kontrolní membráně nedošlo k výrazným změnám v permeabilitě. Výrazný rozdíl byl opět pozorován u membrány, kde byly veškeré EO-Cer nahrazeny O-Cer. V této membráně nebyla nalezena LPP, ale střední lamelární fáze. Takovéto lamelární uspořádání vedlo v této membráně k dramatickému poklesu permeability, v porovnání s membránou připravovanou při 90 °C, a hodnoty se ve většině parametrů přiblížily hodnotám kontroly. Zaznamenali jsme tedy, že teplota přípravy membrán měla výrazný vliv jak na organizaci lipidů, tak na bariérové vlastnosti membrán.

Na membránách s fyziologickým obsahem EO a O-Cer jsme zjistili minimální koncentraci EO-Cer potřebnou pro tvorbu LPP – 7,5 %. Při úplné náhradě EO-Cer za O-Cer nebo při poklesu množství EO-Cer pod 7,5 %, došlo k vymizení LPP a jediná přítomná fáze byla SPP. V membránách bez přítomnosti LPP jsme opět (až na výjimky) zaznamenali zhoršení bariérových vlastností. Na rozdíl od předchozích membrán nešlo v tomto případě o tak výrazné změny. Ovšem se opět domníváme, že důvodem bude nepřítomnost LPP.

U kožních onemocnění, u kterých nedochází k dostatečné biosyntéze EO-Cer, a tyto Cer jsou nahrazeny jejich prekurzory, je narušena tvorba LPP, což může být jedním z důvodů, proč dochází ke zhoršení kožní bariéry u těchto pacientů. Avšak našli bychom i další důvody vedoucí ke zhoršení kožní bariéry, jako je nedostatečná syntéza CLE, proto je potřeba celý problém studovat komplexně.