

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biofyziky a fyzikální chemie

Autor: Aneta Kelemanová

Školitel: Mgr. Petra Pullmannová, Ph.D.

Název diplomové práce: Vliv Ca^{2+} kationtů a cholesteryl sulfátu na model lidské kožní bariéry

Struktura a složení nejsvrchnější vrstvy *epidermis*, *stratum corneum*, tvoří kožní bariéru proti transepidermální ztrátě vody. Hlavními složkami *stratum corneum* jsou korneocyty a mezibuněčná lipidová matrix. Mezibuněčná lipidová matrix je směsí ceramidů, cholesterolu a volných mastných kyselin. Estery cholesterolu, jako je cholesteryl sulfát, jsou také přítomny. Tato unikátní lipidová směs tvoří multilamelární vrstvy s krátkou a dlouhou krystalickou fází s periodicitou zhruba 6 a 13 nm. Oddělená fáze cholesterolu s periodicitou okolo 3,4 nm se také nachází ve *stratum corneum*. Nejčastější laterální uspořádání lipidové směsi je orthorombické. Hexagonální nebo fluidní uspořádání je méně časté.

Cílem této diplomové práce bylo optimalizovat podmínky pro spontánní uspořádání izolovaných lidských kožních lipidů ve vodném prostředí s přidavkem Ca^{2+} kationtů a cholesteryl sulfátu. Model lidské kožní bariéry byl vytvořen z připravené lipidové disperze a byl použit pro sledování vlivu přídatku Ca^{2+} kationtů a cholesteryl sulfátu na lamelární fáze a laterální uspořádání lipidů.

Lipidy použité pro experimentální část této práce byly získány z izolovaného lidského *stratum corneum*. Nejprve bylo *stratum corneum* izolováno z *epidermis* a lipidy byly extrahovány organickými rozpouštědly, poté následovala purifikace pomocí kolonové chromatografie. Získané lipidy byly dále analyzovány vysokoúčinnou tenkovrstvou chromatografií pro semikvantitativní a kvalitativní stanovení. V dalším kroku byl proveden pilotní experiment umožňující vytvoření disperze izolovaných lipidů ve vodném prostředí. Následně byla připravena disperze izolovaných lipidů ve vodném prostředí s přidavkem Ca^{2+} kationtů a cholesteryl sulfátu. Agregáty vznikaly změnou pH z alkalického na kyselé anebo změnou teploty (ochlazením). Agregace indukovaná změnou pH vedla ke vzniku

nedostatečně kompaktních agregátů. Mikrostruktura těchto agregátů byla studována rozptylem rentgenového záření.

Rozptyl rentgenového záření odhalil, že přítomnost Ca^{2+} kationtů a cholesteryl sulfátu umožňuje tvorbu dlouhé fáze s periodicitou ~ 13 nm i v nefyziologickém prostředí (pH 7,4 a 8,5). Kromě toho byly nalezeny další fáze s periodicitou $\sim 5,8$ nm (v kyselém a neutrálním pH) a ~ 9 nm (v neutrálním a alkalickém pH) v přítomnosti Ca^{2+} kationtů a cholesteryl sulfátu. Současně byla zachována struktura laterálního orthorombického uspořádání.