

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biofyziky a fyzikální chemie

Student: Karina Suciú-Šubert

Vedoucí: Mgr. Petra Pullmannová, Ph.D.

Název diplomové práce: Příprava modelu lidské kožní bariéry s využitím depozice tenkých lipidových filmů

Nejsvrchnější část lidské kůže – stratum corneum, která chrání tělo před vnějším prostředím, je tvořena zrohovatělými buňkami – korneocyty, které jsou obklopené extracelulární matrix vysoce uspořádaných lipidů: ceramidů (Cer), mastných kyselin a cholesterolu. Ochranná bariéra se neustále obnovuje dělením keratinocytů, které se diferencují na korneocyty a nakonec se z povrchu kůže odlučují. Korneocyty mají místo plazmatické membrány korneocytární obálku, která se skládá z bílkovinné části (např. involucrin) a jednomolekulární lipidové části tvořené převážně z ω -hydroxylovaných ceramidů, které jsou k bílkovinné části připojené kovalentními vazbami.

Úkolem této diplomové práce byla příprava modelu lidské kožní bariéry s využitím depozice tenkých lipidových filmů. Byly vytvořeny 2 různé směsi lipidů: směs obsahující Cer NS a směs obsahující Cer EOS a NS. Směsi se nanášely na hydrofilní a hydrofobní substrát nastříkáním Linomatem V. Při nastříkávání se měnilo množství lipidů, a tím i počet teoretických vrstev na substrátu. Další metodou byla opakovaná depozice monovrstev směsi NS Langmuir-Blodgettovou technikou.

Naším cílem bylo zjistit, jakým způsobem se lipidy organizují a zda jejich seskupení závisí na jejich složení, množství, počtu vrstev nebo vlastnostech povrchu substrátu. K hodnocení vzorků nastříkovaných Linomatem V jsme použili XRD a světelnou mikroskopii. K hodnocení vzorků vzniklých Langmuir-Blodgettovou technikou jsme použili AFM.

Z XRD metody jsme zjistili, že ve směsi s Cer NS se vyskytovala 1 lamelární fáze s mezirovinnou vzdáleností $\sim 5,3$ nm. U směsi s Cer EOS a NS se vyskytovaly 2 lamelární

fáze: dlouhá s mezivinnou vzdáleností $\sim 12,9$ nm a krátká se vzdáleností $\sim 5,1$ nm. Relativní intenzita difraktovaného záření se u vzorků směsi s Cer NS se sníženým množstvím lipidů výrazně neměnila u obou typů povrchů – hydrofilního a hydrofobního. U vzorků směsi s Cer EOS a NS se měnila jen na hydrofobním povrchu.

Světelnou mikroskopií jsme odhalili, že se snižujícím se množstvím lipidy netvoří kontinuální vrstvu, ale tvoří „hromádky“. Byly viditelné rozdíly mezi hydrofilním a hydrofobním substrátem. Došli jsme k závěru, že čím je ve vzorku méně lipidů, tím více jsou ovlivněny povrchem substrátu.

Metodou AFM jsme pozorovali vzorek směsi s Cer NS, který vznikl Langmuir-Blodgettovou technikou. Objevili jsme přítomnost domén kulatého tvaru s výškovým rozdílem mezi těmito doménami a spodní doménou až 100 nm.

Na závěr jsme na základě výsledků usoudili, že organizace lipidů závisí na jejich složení, množství, počtu vrstev a na vlastnostech povrchu substrátu.