Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Farmaceutické technologie

Školitel: PharmDr. Anna Paraskevopoulou, Ph.D.

Autor: Petra Kašparová

Název diplomové práce: Kultivace kožních štěpů jako modelů pro výzkum bariérové funkce kůže

Kůže ochraňuje lidský organismus před vnějšími škodlivými vlivy prostředí a udržuje stálost vnitřního prostředí. Ochranná funkce je považována za nejdůležitější roli kůže, kterou primárně zajišťuje nejsvrchnější vrstva epidermis *stratum corneum* (SC). Je pro ni zvláště důležité uspořádání lipidové vrstvy obklopující keratinocyty. Dokladem toho je spojitost mezi zvýšenou incidencí kožních onemocnění a nerovnováhou přítomných lipidů.

Tato diplomová práce se zaobírá vyvinutím *ex vivo* modelu lidské kůže, který by v budoucnu sloužil pro studium kožní bariéry a hodnocení topicky podávaných formulací. Cílem této práce je stanovit vhodné kultivační podmínky, tak aby bylo dosaženo dostatečné viability a zároveň byla zachována biosyntéza kožních lipidů.

K nastavení kultivačních podmínek bylo zapotřebí zjistit, zda je z hlediska viability výhodné použít dermatomovanou kůži. Dále byla kultivace prováděna ve čtyřech zkoumaných médiích s obsahem DMEM, kdy se sledoval vliv přídavku Ham's F-12 a fetálního bovinního séra (FBS) na viabilitu a obsah lipidů ve SC. Viabilita byla kvantifikována v definovaných dnech kultivace implementací TTC assay. Obsah lipidů ve SC byl analyzován pomocí HPTLC.

Vzhledem k vyšším hodnotám viability během pilotní kultivace byla metoda validována na dermatomovanou kůži. Byla potvrzena vhodnost přídavku Ham's F-12 pro déletrvající kultivaci. Avšak vhodnost FBS složky v kultivačních médiích nebyla z výsledků kultivace jednoznačně prokázána. Hlavním zjištěním této práce je skutečnost, že kultivací modelů v médiu DMEM-F12 je dosaženo srovnatelné viability v porovnání s kontrolním vzorkem. Zároveň se potvrdil vzrůstající trend celkového obsahu lipidů ve SC, který naznačuje žádoucí růst SC. Podařilo se tedy vyvinout validovaný *ex vivo* model lidské kůže se zachovalou viabilitou a rostoucím obsahem lipidů ve SC po dobu 12 dnů kultivace.