

Antimikrobní peptidy pro kosmetické využití

Sarah Lee Haššanová

Bakalářská práce
2024

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Sarah Lee Haššanová
Osobní číslo: T21118
Studijní program: B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace: Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Antimikrobní peptidy pro kosmetické využití

Zásady pro vypracování

Teoretická část:

Zpracujte literární rešerši na zadané téma.

Definujte antimikrobní peptidy (AMP) a věnujte se jejich zdrojům, postupům získávání a mechanismu působení.

Zaměřte se na AMP, které mohou být použity v kosmetice a dalších topických aplikacích.

Navrhněte konkrétní AMP, které by byly vhodné pro použití v reálných kosmetických přípravcích a odůvodněte vaši volbu.

Zamyslete se rovněž nad možnostmi dodání těchto látek do kůže (na kůži) pomocí relevantních nosičů.

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

- [1] Alencar-Silva, T et al.: Breaking the frontiers of cosmetology with antimicrobial peptides. *Biotechnology Advances* 2018, 36 (8), 2019-2031.
- [2] Rahnamaeian, M and Vilcinskas, A: Short antimicrobial peptides as cosmetic ingredients to deter dermatological pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2015, 99 (21), 8847-8855.
- [3] Rademacher, F; Glaser, R and Harder, J: Antimicrobial peptides and proteins: Interaction with the skin microbiota. *Experimental Dermatology* 2021, 30 (10), 1496-1508.
- [4] Caselli, L and Malmsten, M: Skin and wound delivery systems for antimicrobial peptides. *Current Opinion In Colloid & Interface Science* (2023), Article Number 101701.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORKY BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studentky: Sarah Lee Haššanová

.....
podpis studentky

ABSTRAKT

Cieľom tejto bakalárskej práce je charakterizácia antimikróbnych peptidov a ich využitie v kozmetických aplikáciách. Práca sa zaoberá charakteristickými vlastnosťami antimikróbnych peptidov, ich klasifikáciou, zdrojom a mechanizmom pôsobenia. Ďalej práca objasňuje ich využitie, najmä v oblasti kozmetiky. Práca rieši problematiku aplikácie antimikróbnych peptidov pri liečbe kožných ochorení spoločne s predstavením vhodných nosičov pre ich dodávanie.

Kľúčová slova: antimikróbne peptidy, defenziny, katelicidiny, baktérie, kožné ochorenie, kozmetika, nosič

ABSTRACT

The purpose of this bachelor thesis is to characterize antimicrobial peptides and their use in cosmetic applications. The thesis explains the characteristic properties of antimicrobial peptides, including their classification, source, and mechanisms of action. Next, the thesis clarifies their utilization, particularly in the field of cosmetics. The thesis also focuses on the application of antimicrobial peptides in the treatment of skin diseases, together with the presentation of appropriate carriers for their delivery.

Keywords: antimicrobial peptides, defensins, cathelicidins, bacteria, skin disease, cosmetics, carrier

Chcela by som sa poďakovať vedúcej mojej bakalárskej práce, pani doc. Ing. Věře Kašpárkové CSc. za jej odborné vedenie, cenné rady a všetku ochotu, čas a trpezlivosť, ktoré mi počas písania tejto práce venovala. Ďalej by som chcela poďakovať všetkým mojim blízkym, ktorí mi toto štúdium umožnili a celý čas ma na tejto ceste podporovali.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 ANTIMIKROBNÉ PEPTIDY	11
1.1 CHARAKTERISTIKA ANTIMIKRÓBNÝCH PEPTIDOV	11
1.2 DATABÁZY PEPTIDOV	13
1.3 ZDROJE AMP	13
1.3.1 Bakteriálne zdroje	13
1.3.2 Živočíšne zdroje	13
1.3.3 Rastlinné zdroje.....	14
1.3.4 <i>De-novo</i> syntetizované AMP	14
1.4 KLASIFIKÁCIA AMP.....	15
1.5 DEFENSINY A KATELICIDINY	16
1.6 MECHANIZMUS PÔSO BENIA AMP.....	18
1.6.1 Membránový mechanizmus pôsobenia AMP	18
1.6.2 Nemembránový mechanizmus pôsobenia AMP	19
1.6.3 Imunomodulačný mechanizmus.....	20
2 VYUŽITIE AMP	21
2.1 MEDICÍNA	21
2.2 POTRAVINÁRSKY PRIEMYSEL	21
2.3 POĽNOHOSPODÁRSTVO.....	22
3 AMP V KOŽI.....	23
3.1 INFEKČNÉ OCHORENIA KOŽE	23
3.2 CHRONICKÉ OCHORENIA KOŽE	23
3.2.1 Atopická dermatitída	23
3.2.2 Acne vulgaris	24
3.2.3 Psoriáza	25
3.3 HOJENIE RÁN.....	25
3.4 AMP V LIEČBE KOŽNÝCH OCHORENÍ.....	26
4 NOSIČE PRE AMP.....	28
4.1 LIPOZÓMY	28
4.2 TUHÉ LIPIDOVÉ NANOČASTICE (SLNP).....	29
4.3 KUBOZÓMY	29
4.4 MIKROGÉLY	30
4.5 POLYMÉRNE NANOČASTICE	31
ZÁVĚR	32
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	33

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	41
SEZNAM OBRÁZKŮ	42
SEZNAM TABULEK.....	43

ÚVOD

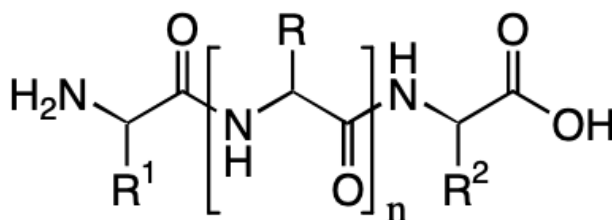
Už od samotného vzniku ľudstva sa populácia stretáva s rozmanitými druhmi patogénov. Nárast populácie spôsobil aj nárast rôznych baktérií, vírusov či plesní, s ktorými sa ľudstvo snaží bojovať. Hoci sú tradičné antibiotiká účinné, ich účinnosť prestáva držať krok s narastajúcou rezistenciou, ktorú si patogény proti nim pestujú. Vyrvalá práca vedeckých výskumníkov sa permanentne tento náskok snaží eliminovať, aby sa celosvetová populácia vedela brániť voči patogénom rezistentným na antibiotiká. Preto v posledných rokoch vzbudzuje vysoký záujem výskum antimikróbnych peptidov. Tieto krátke peptidy vykazujú antimikróbne účinky voči širokému spektru patogénov. Vďaka tejto vlastnosti majú vysoký potenciál v budúcnosti, kde môžu byť kľúčom v boji proti mikróbom rezistentným na klasické antibiotiká.

Táto bakalárska práca sa venuje bližšiemu ozrejmieniu pojmu antimikróbne peptidy a ich využitiu, najmä v oblasti kozmetiky. Rieši ich charakteristiku a základné vlastnosti, mechanizmy pôsobenia, ale aj ich zdroje. Ďalej sa zaoberá ich klasifikáciou na základe antimikróbnej aktivity, ale aj ich rozdelením na dve významné skupiny, defensíny a katelicidíny. V krátkosti sa poveruje aj využitiu antimikróbnych peptidov v odvetviach mimo kozmetiky. Hlavnou časťou je predstavenie využitia týchto peptidov v oblasti kozmetiky, kde sa zaoberá problematikou aplikácie antimikróbnych peptidov pri liečbe vybraných kožných ochorení. Nakoniec sa práca krátko zaoberá vhodnými nosičmi, ktoré sú schopné prenášať antimikróbne peptidy, bez obmedzovania ich účinnosti.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ANTIMIKROBNÉ PEPTIDY

Peptidy sú biopolyméry zložené z aminokyselín, ktoré sú prepojené peptidovou väzbou. Reakciou karboxylovej skupiny jednej aminokyseliny s aminoskupinou druhej aminokyseliny vzniká peptidová väzba, kde pri naviazaní dvoch a viac aminokyselín vzniká peptidový reťazec. Na základe dĺžky peptidového reťazca sa rozlišujú dva druhy peptidov, oligopeptidy a polypeptidy. Oligopeptidy sú zložené z 2 až 10 aminokyselín a polypeptidy obsahujú viac ako 10 aminokyselín, pričom ich dĺžka neprekračuje viac ako 100 aminokyselinových zbytkov. Peptidy zastávajú dôležitú úlohu pri mnohých biologických procesoch. Zaujímavými polypeptidmi sú antimikróbne peptidy, ktoré vykazujú antimikróbne účinky voči patogénnym bunkám. [1, 4]



Obrázek 1: Štruktúrny vzorec dipeptidu [22]

1.1 Charakteristika antimikróbných peptidov

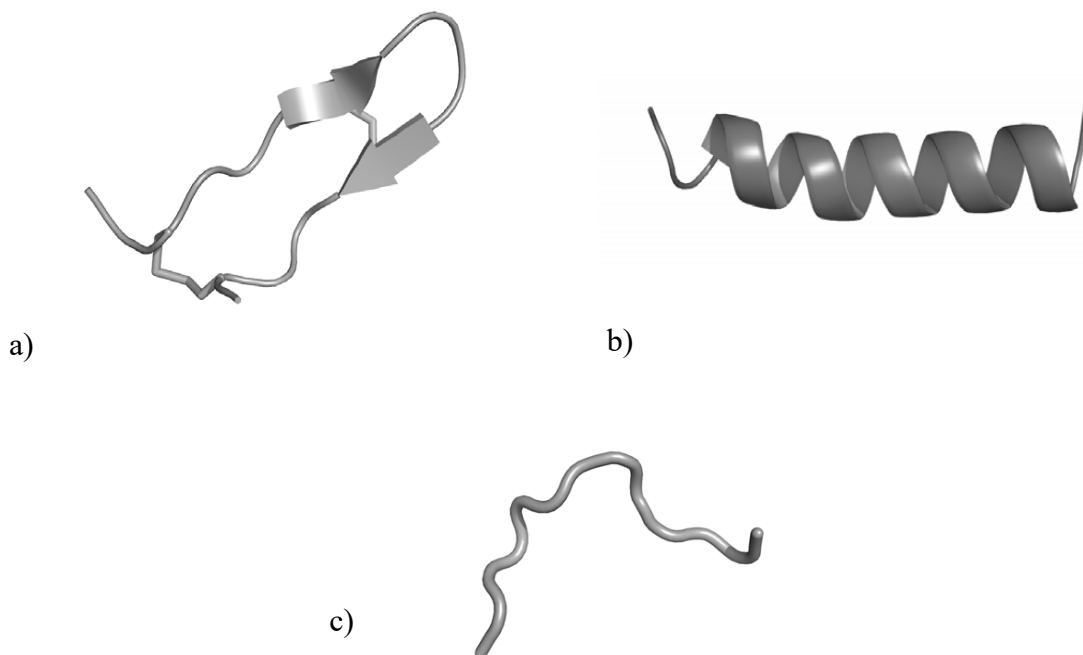
Antimikróbne peptidy (AMP) sú zložené z 10 až 50 aminokyselín. Dĺžka reťazca je rozhodujúcim faktorom pre antibakteriálnu aktivitu, ktorá sa znižuje, keď sa znižuje dĺžka peptidu. Najkratšie antimikróbne peptidy F3 a Gageotetrin-A pozostávajú iba z dvoch aminokyselín [20, 21]. Veľká väčšina AMP je kladne nabitá, hlavne vďaka prítomnosti aminokyselín lyzínu a arginínu, ktoré nesú kladný náboj. Tie tiež vykazujú mnohonásobne vyššiu aktivitu, než ostatné AMP. Len niekoľko peptidov je záporne nabitých. Anionické AMP majú malú veľkosť a ako kofaktor pre baktericídnu aktivitu potrebujú zinok. Všetky AMP majú schopnosť tvoriť amfifilnú štruktúru, teda obsahujú aj hydrofilné aj lipofilné časti. Vďaka ich hydrofóbnym zvyškom sú schopné antibakteriálnej aktivity, pretože peptidy bez hydrofóbných zvyškov majú problém s prichytením na membránu patogénnej bunky. Hydrofóbné zvyšky zaisťujú dlhšie prichytenie na membráne, vďaka čomu sú schopné membránu permeabilizovať. Zloženie AMP určuje ich špecifickosť a biologickú aktivitu. V AMP najviac prevládajú aminokyseliny prolín, glycín, histidín, lyzín a arginín. [2, 11]

Antimikróbne peptidy sa môžu vyskytovať v nasledujúcich základných štruktúrach. Sú nimi α -helix, β -skladaný list alebo rozvoľnená štruktúra (Obr.2). Niektoré zdroje uvádzajú aj štruktúru slučky. Peptidy sa následne môžu skladať z kombinácií týchto základných štruktúr. Štruktúra, v ktorej sa daný peptid nachádza ovplyvňuje jeho aktivitu a účinnosť. [2, 9]

Štruktúra α -helix sa v prírode vyskytuje najčastejšie. Táto štruktúra vytvára amfifilnú špirálu, ktorá má hydrofilné aj lipofilné vlastnosti. Vo vodnom prostredí sú tieto peptidy neštruktúrované, ale pri kontakte s biologickou membránou sa zvinú do α -helix podoby, ktorá je dôležitá pre ich antimikróbne pôsobenie. [2]

Ďalšou štruktúrou je β -skladaný list. Táto štruktúra pozostáva z antiparalelných reťazcov, ktoré vytvárajú aj hydrofilné aj hydrofóbne povrchy, teda sú tiež amfifilné. Peptidy tejto štruktúry sú schopné tvoriť spomenutý tvar aj vo vodnom prostredí a udržiavajú si ho aj pri kontakte s biologickou membránou. [2]

Treťou štruktúrou je voľná štruktúra, kde majú peptidy tvar lineárneho reťazca. Peptidy voľnej štruktúry nie sú schopné vytvoriť klasickú sekundárnu štruktúru. [2, 9]



Obrázek 2: Základné štruktúry AMP, a) β -skladaný list, b) α -helix, c) voľná štruktúra [9]

1.2 Databázy peptidov

Na vyhľadávanie a získavanie informácií ohľadom peptidov slúžia databázy peptidov. Obsahujú informácie ako sú napríklad ich štruktúra, bioaktivita, klasifikácia a ďalšie. Tieto databázy sa delia na dve skupiny, všeobecné a špecifické. Všeobecné databázy pozostávajú zo zoznamu všetkých typov AMP. Špecifické databázy sa zameriavajú skôr na peptidy, ktoré sú súčasťou jednej skupiny. Momentálne neexistuje jedna databáza, ktorá by obsahovala dáta všetkých AMP, ale informácie o nich sú rozdelené do niekoľkých databáz. Medzi všeobecné databázy patria napríklad Antimicrobial Peptides Database (dbAMP), Database of Antimicrobial Activity and Structure of Peptides (DBAASP), Linking antimicrobial peptide (LAMP) alebo Collection of antimicrobial peptides (CAMP). Medzi špecifické databázy patria napríklad Biofilm-active AMPs database (BaAMPs), Parasites Peptides (ParaPep), Database of anuran defense peptides (DADP) alebo A manual database on the defensins family of antimicrobial peptides (Defensins). [3]

1.3 Zdroje AMP

Existuje mnoho zdrojov AMP, od prírodných až po syntetické. Antimikróbne peptidy sú produkované v mnohých organizmoch, jednobunkových či mnohobunkových. Medzi prírodné zdroje AMP patria baktérie, živočíchy a rastliny. [4, 5, 6]

1.3.1 Bakteriálne zdroje

Jednou z biologických ciest získavania AMP sú mikroorganizmy, ako baktérie. AMP produkované baktériami slúžia ako obranný mechanizmus proti iným baktériám. Baktérie produkujú peptidy hlavne neribozomálnou syntézou, no sú schopné aj ribozomálnej syntézy. Medzi najznámejšie baktériou produkované peptidy patrí bakteriocin nisin, produkovaný hlavne baktériami mliečneho kvasenia ako *Lactococcus lactis*, a gramicidin, produkovaný pôdnymi baktériami, napríklad *Bacillus brevis*. Nisin aj gramicidin sú veľmi účinné v boji proti gram-pozitívnym baktériám, medzi ktoré patria napríklad stafylokoky, streptokoky alebo enterokoky. [4]

1.3.2 Živočíšne zdroje

Ďalšou biologickou cestou získavania AMP sú živočíchy, či už to sú cicavce, obojživelníci alebo hmyz. Tie produkujú AMP pri ribozomálnej translácii mRNA pri proteosyntéze.

U živočíchov sú AMP súčasťou vrodenej imunity, kde sa podieľajú v boji proti patogénom nachádzajúcim sa v organizme. Tieto peptidy sú dôležitou súčasťou aj ľudského organizmu, ktorý obraňujú proti bakteriálnym infekciám. Jedným z najznámejších AMP produkovaných ľudským telom je katelicidin LL-37. Tento peptid sa napríklad nachádza v pokožke novorodencov. Ďalším peptidom je defenzin 2 (hBD-2), ktorý sa vyskytuje skôr u starších jedincov. [4]

1.3.3 Rastlinné zdroje

AMP sa dajú získavať aj z rastlín. Nachádzajú sa v rôznych častiach rastlín, ako sú stonky, semená alebo aj listy. V rastlinách sa nachádzajú ako súčasť bariérového ochranného systému, kde zohrávajú dôležitú úlohu pri obrane rastliny proti fytopatogénom. Rastliny disponujú niekoľkými druhmi AMP. Patria medzi ne thioniny, bohaté na arginin, lysin a cystein, ďalej defensiny, ktoré sú získavané napríklad z pšenice, proteíny transportujúce lipidy, puroindoliny a cyklotidy. AMP získavané z rastlín majú vysoký potenciál v medicíne a biotechnológiách a môžu byť využívané ako prírodné antibiotiká. [5]

1.3.4 *De-novo* syntetizované AMP

De-novo syntéza je proces produkcie zložitých molekúl z jednoduchých. *De-novo* syntéza peptidov je teda skladba molekuly peptidu z jednotiek aminokyselín. Tento proces sa využíva hlavne v chemickej príprave AMP. Momentálne sú známe dve metódy prípravy peptidov, syntéza v roztokoch a v pevnej fáze. [6]

Pri syntéze peptidov v roztokoch je základom reakcia aminokyselín v rozpustnom prostredí. Výhodou tejto metódy sú nízke ekonomické náklady, keďže využíva menej nákladný materiál a zariadenia. No nevýhodou tejto metódy je zdĺhavý proces, ktorý je nevyhnutný pre získanie výsledného aktívneho peptidu. Ďalšou nevýhodou je veľké množstvo chemického odpadu a nerozpustnosť dlhých peptidových reťazcov v organickom rozpúšťadle. Aj napriek nevýhodám, táto metóda ponúkla svetovým trhom množstvo peptidov o dĺžke 3 až 20 aminokyselín. [6]

Druhou metódou je syntéza v pevnej fáze. Táto metóda spočíva v reakcií aminokyselín zachytených na pevný nosič. AMP sú syntetizované postupne od C po N koniec za použitia Na-chránených aminokyselín. Po dokončení syntézy je potom AMP z pevného nosiča uvoľnený vhodnou kyselinou. Táto metóda je rýchlejšia a jednoduchšia oproti syntéze v roztoku. Jej nevýhodou je však príliš veľké množstvo počiatočného materiálu, potrebného pre zahájenie procesu výroby. [6]

1.4 Klasifikácia AMP

Jednoznačná klasifikácia AMP je veľmi obťažná a líši sa aj v rade literárnych zdrojov. AMP je možné klasifikovať podľa rady kritérií. Prihliada sa na ich chemické zloženie, zdroje z ktorých pochádzajú, funkciu, náboj, mechanizmus pôsobenia alebo štruktúru. Ďalšou možnosťou klasifikácie je Univerzálny klasifikačný systém (UC), ktorý kategorizuje AMP do štyroch tried na základe kovalentných väzieb. Tento klasifikačný systém, bol však navrhnutý v čase, keď bola známa 3D štruktúra malého počtu AMP a neberie do úvahy ani túto 3D štruktúru a ani zdroje alebo aktivitu AMP. Iná klasifikácia rozdeľuje AMP podľa ich biologickej aktivity, teda podľa ich účinnosti voči rôznym patogénom alebo bunkám. [3, 7]. Táto naposledy menovaná klasifikácia, ktorá má úzky vzťah k praktickému využitiu AMP, je predstavená v tejto časti práce.

Najväčšou skupinou podľa tejto klasifikácie sú *antibakteriálne peptidy* (ABP) Sú podskupinou AMP s kladne nabitým nábojom, ktoré pôsobia proti baktériám. Pôsobia na záporne nabitú vonkajšiu membránu baktérie, do ktorej následne preniknú a spôsobujú smrť baktérie inhibíciou DNA replikácie a syntézy proteínov. [3]

Druhou najväčšou skupinou sú *antimykotické peptidy* (AFP). Veľké množstvo húb spôsobuje infekčné ochorenia u ľudí. Problémom je, že tieto huby začínajú byť rezistentné voči antimykotikám, preto AFP vzbudzujú záujem ako nová alternatíva boja proti infekčným ochoreniam spôsobeným hubami. AFP disponujú niekoľkými mechanizmami pri deštrukcii patogénov, ako sú napríklad inhibícia syntézy DNA a RNA, permeabilizácia membrán, inhibícia syntézy bunkovej steny a enzýmovej aktivity. [3]

Tretou najväčšou skupinou sú *antivírusové peptidy* (AVP). Tieto peptidy disponujú s virucídnou aktivitou. Ich podstata účinnosti voči vírusom spočíva v zásahu do replikácie vírusov, teda zameriavajú sa na DNA a RNA vírusu. Inhibujú enzýmy podieľajúce sa na transkripcii a replikácii, čím dokážu zničiť patogén. [3]

Medzi ďalšie, menšie skupiny AMP rozdelených podľa aktivity patria ďalej *protinádorové peptidy* (ACP). Majú vysoký potenciál v budúcej liečbe rakoviny, pretože tieto peptidy vykazujú účinnosť voči nádorovým bunkám. Zaužívané lieky na chemoterapiu spôsobujú

chemickú rezistenciu, čo sa môže preukázať ako znížená účinnosť alebo zvýšené riziko recidívy. ACP disponujú minimálnymi vedľajšími účinkami a vysokou špecifickosťou. [3]

Poslednou skupinou sú *antiparazitické peptidy* (APP). Tieto peptidy pôsobia proti parazitom, ktoré spôsobujú ochorenia ako je napríklad malária. Postihnuté obyvateľstvo trpí nedostatkom vhodných vakcín a zvyšujúcou sa rezistenciou voči zaužívaným liečivám. Preto APP môžu predstavovať potenciálne riešenie v boji proti populačným ochoreniam prenášaným parazitmi. [3]

1.5 Defensiny a katelicidiny

Dôležitou a intenzívne študovanou skupinou AMP sú defensiny a katelicidiny.

Ľudské defensiny sú malé kationové peptidy ktoré sa ďalej delia na α -defensiny a β -defensiny. α -defensiny majú dĺžku 29 až 35 aminokyselín a tvoria β -skladaný list, ktorý je stabilizovaný vodíkovými a disulfidovými väzbami. Tieto defensiny sa najčastejšie vyskytujú v neutrofilných granulocytoch, kde zohrávajú úlohu pri usmrcovaní fagocytovaných mikroorganizmov. β -defensiny sú o niečo dlhšie a nachádzajú sa hlavne v epitelových bunkách na slizničných povrchoch. Defensiny aj okrem antimikróbnych vlastností preukazujú protinádorovú aktivitu alebo schopnosť stimulovať bunecnú proliferáciu. Defensiny pôsobia proti gram-pozitívnym, gram-negatívnym baktériám, vírusom i plesniam a ich kladný náboj umožňuje interakciu s negatívne nabitou bunecnou stenou mikroorganizmov. Antibakteriálnu aktivitu α -defensinov zaisťujú kladne nabité zbytky aminokyselín prítomné v proteínoch. Strata týchto zbytkov vedie k strate antibakteriálnej aktivity a zbytky arginínu sú pre antimikróbne vlastnosti vhodnejšie, než zbytky lysinu. Baktericídna aktivita β -defensinov je citlivá na prítomnosť solí a je inhibovaná prítomnosťou kationov. [7, 18]

Katelicidiny sú odvodené od proteínov s vysoko konzervovanou signálnou sekvenciou a vysoko variabilnou peptidovou oblasťou. Katelicidinové peptidy boli izolované z mnoho rôznych druhov cicavcov. U ľudí však bol popísaný len jeden katelicidin, LL-37. AMP zo skupiny katelicidinov majú najčastejšie dĺžku 12 – 80 aminokyselinových zbytkov (MW 4,5 kDa) a môžu zaujať rôzne štruktúry; v lipidových membránach a vo fyziologickom prostredí je to najčastejšie α -helix. Katelicidin sa nachádza v leukocytoch, v bunkách kože či respiračného ústrojenstva. Má tiež schopnosť stimulovať tvorbu ciev v poranených

tkanivách alebo obnovu epitelu pri hojení rán. K jeho zaujímavým vlastnostiam patrí i chemotaxia (príťahuje biele krvinky do miesta poranenia). [7, 18]

LL-37 vykazuje antimikróbnu aktivitu proti širokému spektru gram-pozitívnych a gram-negatívnych baktérií *in vitro*. Táto tematika bola intenzívne študovaná v rade vedeckých prác a je zhrnutá napríklad v práci výskumného tímu Neshani a kol. Príklady hodnôt minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) voči gram pozitívnym a gram negatívnym baktériám sú uvedené v Tab.1. Hodnoty MIC stanovené *in vitro* leží v rozmedzí 10 až 250 $\mu\text{g/ml}$ a sú výrazne vyššie než koncentrácie popísané *in vivo*. Antimikróbná účinnosť LL-37 je najvyššia za podmienok nízkej iónovej sily a podobne ako v prípade defensinov, je negatívne ovplyvnená prítomnosťou dvojmocných katiónov. Väčšiemu rozšíreniu aplikácie LL-37 v praxi však zatiaľ bránia vysoké náklady na jeho prípravu a náchylnosť k proteolytickej degradácii. Problémom je rovnako jeho cytotoxicita [23, 24]

Medzi stratégie, ako prekonať vyššie uvedené nedostatky, je využitie štruktúrnych derivátov LL-37, kedy úprava LL-37 môže spočívať napríklad v skrátaní či alternácií vychádzajúcej aminokyselínovej sekvencie, ktorá si zachováva antimikróbnu aktivitu. [18, 19]

Tabulka 1: Minimálna inhibičná koncentrácia LL-37 pre vybrané baktérie [23]

Baktéria	MIC [$\mu\text{m/ml}$]
<i>Staphylococcus aureus</i>	14 \geq 128
<i>Escherichia coli</i>	9 – 44,9
<i>Helicobacter pylori</i>	8,9 - 300
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16 – 64
<i>Salmonella</i>	4 – 143,7
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,5 – 2,2

Tieto deriváty LL-37 príťahujú pozornosť pre svoje potenciálne nízke výrobné náklady a možnosť optimalizácie ich antimikrobiálnych a imunologických vlastností. Napríklad, jeden z analógov LL-37, KR-12-a5 bol študovaný v publikácii výskumného tímu Kim a kol. Výsledky testov preukázali, že vykazuje silnú antimikrobiálnu aktivitu proti gram-pozitívnym, gram-negatívnym baktériám i proti baktériám rezistentným na antibiotiká, vrátane klinicky izolovaných MRSA kmeňov. Okrem toho, v zrovnaní s LL-37, KR-12-a5

vykazoval lepšie synergické účinky s bežnými antibiotikami (chloramfenikol, ciprofloxacín a oxacilín). KR-12-a5 si rovnako zachoval antimikróbnú aktivitu vo fyziologických médiách. Výsledky tejto štúdie ukázali, že KR-12-a5 môže byť sľubnou látkou k liečbe infekcii rezistentných na antibiotiká. [44]

1.6 Mechanizmus pôsobenia AMP

Existuje niekoľko spôsobov pôsobenia antimikróbných peptidov. Mechanizmus ich účinku sa dá rozdeliť na dve hlavné kategórie, mechanizmus priameho usmrtenia a imunomodulačný mechanizmus. Mechanizmus priameho usmrtenia sa dá ďalej rozdeliť na membránový mechanizmus a nemembránový mechanizmus. [8]

1.6.1 Membránový mechanizmus pôsobenia AMP

Pri tomto mechanizme môžu mať peptidy receptorové alebo nereceptorové interakcie s membránou. Receptorové interakcie majú väčšinou AMP produkované baktériami a pôsobia *in vitro* v nanomolárnej koncentrácii. Väčšina AMP stavovcov pôsobia na membránu nereceptorovými interakciami a fungujú na princípe interakcie so zložkami membrány. Pri strete membrány a AMP prebehnú počiatočné elektrostatické a hydrofóbne interakcie, po ktorých sa následne kationické AMP hromadia na povrchu negatívne nabitej membrány baktérií. Keď dosiahnu požadovanú koncentráciu, usadia sa na membráne a ich ďalšie pôsobenie je možné opísať niekoľkými modelmi (Obr.3). [8]

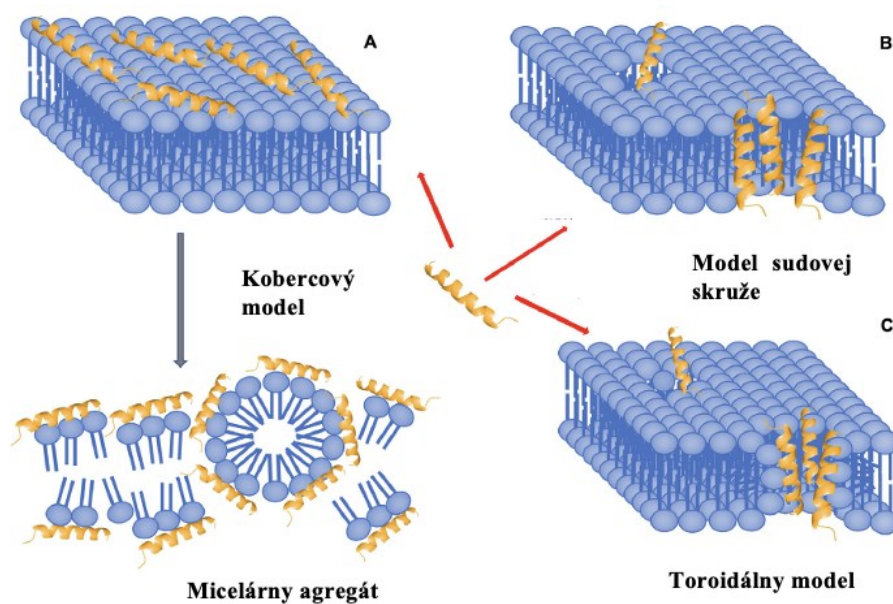
Prvým membránovým mechanizmom je **model sudovej skruže** (Barrel Stave model). V tomto modeli sa AMP hromadia na povrchu rovnobežne s membránou a po dosiahnutí požadovanej koncentrácie sa zasunú kolmo do membrány. Hydrofóbne časti AMP interagujú s membránovými lipidmi a hydrofilné zvyšky vytvárajú póry, alebo kanály. [8,9]

Ďalším modelom je **toroidálny model** (Toroidal pore model). Rovnako ako v prípade predošlého modelu, peptidy sa zasúvajú do membrány, ale medzi peptidmi neprebiehajú interakcie. Pri tomto modeli vznikajú takzvané toroidálne póry, ktoré vznikajú zakrivením lipidovej dvojvrstvy membrány pôsobením peptidov. V tomto prípade sú kanály tvorené aj peptidmi aj fosfolipidmi. [8, 9]

Hlavným rozdielom týchto dvoch modelov je zachovanie usporiadania hydrofóbnej a hydrofilnej časti dvojvrstvy. Pri modeli sudovej skruže toto usporiadanie zostáva zachované a naopak pri toroidálnom modeli sa toto usporiadanie narušuje pôsobením

peptidov. Po vytvorení kanálov sa niektoré peptidy presunú do cytoplazmy bunky a môžu zasahovať do intracelulárnych zložiek. Tieto interakcie následne vedú k depolarizácii membrány a k následnej bunkovej smrti. [8, 9]

Ďalším modelom je **kobercový model** (Carpet model). Pri tomto modeli AMP netvorí póry v membráne ako pri dvoch predchádzajúcich modeloch. AMP sa zhľukujú paralelne na membráne pokým nepokryjú povrch membrány, tvoriac tak „koberec“. Interakciami na povrchu sa stráca integrita membrány, čo vedie k rozpadu membrány na micely. Tento model sa označuje aj ako model micelárneho agregátu. [8, 9]



Obrázek 3: Modely membránového mechanizmu pôsobenia AMP [4]

1.6.2 Nemembránový mechanizmus pôsobenia AMP

AMP môžu v nemembránovom mechanizme pôsobiť na bunkovú stenu alebo sa zamerať na intracelulárne ciele. Jedným z ich mechanizmov účinku je inhibícia syntézy bunkovej steny. AMP pôsobia na molekuly prekursorov, ktoré sú esenciálne pre syntézu bunkovej steny, ako je napríklad vysoko konzervovaný lipid II. AMP sa viažu na jeho záporne nabitú pyrofosfátovú cukrovú časť a táto väzba môže následne podporovať tvorbu pórov a narušenie membrány. [8]

Po preniknutí peptidu cez membránu sa AMP môžu zamerať na niektoré bunkové procesy. Ich pôsobením môžu spôsobovať inhibíciu syntézy nukleových kyselín, ktoré sú neoddeliteľnou súčasťou pri bunkových procesoch, ako je napríklad proteosyntéza. Ďalej

môžu narušovať aktivitu enzýmov a proteínov, ktoré sa tiež podieľajú na bunkových procesoch. [8]

1.6.3 Imunomoduláčny mechanizmus

AMP sú produkované mnohými imunitnými bunkami, ako sú napríklad neutrofilny a makrofágy. Vďaka tomu patria medzi prvé molekuly, ktoré sa stretávajú s mikróbmami. Preto majú schopnosť zhromažďovať imunitné bunky, čo zaisťuje výraznejšie zabíjanie mikróbov a lepšiu kontrolu pri zápale. Ak sa v organizme nachádza infekcia, je potrebné vyvolať imunitnú reakciu na privolanie buniek imunitného systému. Niektoré AMP majú túto vlastnosť, teda priťahovať imunocyty. Ďalej majú schopnosť imunocyty aktivovať a podporovať ich diferenciáciu. Aj napriek tomu, že bolo preukázané, že väčšina AMP interaguje so zložkami vrodeneho imunitného systému, ako sú neutrofilny a makrofágy, existuje dôkaz, že sa tiež zúčastňujú modulácie adaptívneho imunitného systému, teda T a B lymfocytov. [8, 12]

2 VYUŽITIE AMP

Vďaka svojim antimikróbnyim vlastnostiam a potenciálu môžu AMP slúžiť hneď v niekoľkých odvetviach. Medzi tieto odvetvia patria napríklad medicína, potravinársky priemysel alebo poľnohospodárstvo. [10] Ďalšie významné využitie nachádzajú AMP v oblasti kozmetiky a dermatológie. Táto problematika je podrobnejšie rozpracovaná v kapitole 3.4.

2.1 Medicína

Vďaka ich antimikróbnyim vlastnostiam predstavujú AMP riešenie pri boji proti ochoreniam. Pri vzrastajúcej rezistencii baktérií a vírusov proti klasickým antibiotikám predstavujú potenciálnu budúcnosť medicíny. Navyše vykazujú aktivitu pri hojení rán, podporovaním proliferácie a migrácie buniek a zhromažďovaním leukocytov. Ďalej môžu slúžiť pri orálnych, respiračných a gastrointestinálnych ochoreniach. Jedným z príkladov môže byť peptid P-113, ktorý je odvodený od proteínu slín, histatínu 5 a priaznivo účinkuje pri plesňovom ochorení ústnej dutiny, orálnej kandidóze. Podskupina AMP, protinádorové peptidy vykazujú protinádorovú aktivitu, ktorá môže predstavovať budúcnosť liečby nádorových ochorení. Niektoré AMP môžu slúžiť ako terapeutické činidlá pri infekciách, ktoré sa môžu vyskytnúť ako pooperačné komplikácie. Nevýhodou je, že AMP sú zatiaľ len v stave skúmania a aj napriek vysokému množstvu identifikovaných peptidov sa na komerčné účely využíva len malé množstvo. [10]

2.2 Potravinársky priemysel

Ďalšie odvetvie, kde môžu byť AMP užitočné je potravinársky priemysel. Ich antimikróbne vlastnosti zaujali hlavne pri konzervácii potravín, kde môžu nahradiť bežné konzervanty. Konzervanty v potravinách musia spĺňať niekoľko kritérií, aby nepredstavovali nebezpečie pre konzumenta a prírodné prostredie. Konzervanty by mali byť prírodného pôvodu a mali by mať antimikróbnu aktivitu, ktorá predíde znehodnoteniu potravín mikroorganizmami. AMP môžu predstavovať bezpečnú, prírodnú a zdravú alternatívu bežných konzervantov. Napríklad peptid Snakin-1, ktorý je extrahovaný zo zemiakových hľúz, vykazuje antimikróbnu aktivitu pri inhibícii rastu kvasiniek. Testované peptidy nepreukázali, že by ovplyvňovali kvalitu potravín, čo sa radí medzi ďalšie výhody AMP v potravinárskom priemysle. Jednou z možností využitia je aj pridanie AMP do obalov potravín, kde sa rovnako ako pri pridaní peptidov do potravín, preukázala ich antimikróbna aktivita. [10]

2.3 Poľnohospodárstvo

Dlhodobým využívaním pesticídov a antibiotík v poľnohospodárstve sa zvyšuje rezistencia patogénov a iných škodcov. Navyše tieto pesticídy môžu obsahovať škodlivé látky, ktoré sa ďalej môžu dostať až ku konzumentovi a pri nesprávnom spracovaní sa môžu kumulovať v organizme. Preto aj v tomto odvetví môžu AMP predstavovať inováciu a nahradiť zaužívané insekticídy a antibiotiká. Napríklad rastliny ako tabak alebo citrusy boli geneticky modifikované AMP-kódovanými génmi a vykázali niekoľko zmien, ako napríklad zvýšenú odolnosť voči baktériám a plesniam. Vďaka ich prírodnému pôvodu, AMP sú navyše neškodné pre životné prostredie a pre finálneho konzumenta produktov poľnohospodárskej činnosti. [10]

3 AMP V KOŽI

Koža je najväčším orgánom ľudského tela, ktorá predstavuje ochrannú bariéru proti vonkajším vplyvom. Bolo preukázané, že na tejto ochrannej funkcii sa podieľajú AMP syntetizované kožnou mikroflórou a keratinocytmi. Zvýšený výskyt AMP v koži sa dá pozorovať hlavne pri infekcií patogénmi, pri výskyte kožného ochorenia alebo pri mechanickom poranení. [13]

3.1 Infekčné ochorenia kože

Medzi najčastejšie infekčné ochorenia patria infekcie kože a mäkkých tkanív. Tieto infekcie sú spôsobené baktériami a môžu byť sprevádzané ľahkým priebehom bez nutnosti užívania antibiotík, alebo môžu viesť ku zložitejším komplikáciám, ktoré si už vyžadujú liečbu antibiotikami, kde dlhodobá liečba môže spôsobovať narastajúcu rezistenciu voči liečivu. Tým sa baktéria stane odolná voči antibiotikám. Medzi baktérie vyvolávajúce infekcie kože patrí predovšetkým *Staphylococcus aureus*. Táto baktéria spôsobuje nozokomiálne infekcie rán, ktoré sú spojené s hospitalizáciou alebo s nutnosťou poskytovať zdravotnú starostlivosť. Táto baktéria vylučuje látky inhibujúce hojenie rán, ktoré predlžujú zápal a spôsobujú chronické infekcie. AMP by mohli byť potencionálnym riešením pri bakteriálnej rezistencii na antibiotiká. Namiesto priameho zabíjania baktérií AMP vykazujú aktivitu ako neutralizácia faktorov spôsobujúcich bakteriálnu škodlivosť alebo sa podieľajú na regulácii imunitnej odpovede hostiteľa zvyšovaním hladiny imunitných buniek. AMP, na rozdiel od klasických antibiotík účinkujú proti rôznym druhom baktérií a majú odlišný spôsob pôsobenia, ktorý nevyžaduje špecifické väzobné miesta pre proteíny. Vďaka tomuto spôsobu sa znižuje pravdepodobnosť vzniku rezistencie baktérií voči AMP. [13]

3.2 Chronické ochorenia kože

Medzi chronické ochorenia kože patria napríklad atopická dermatitída, *acne vulgaris* alebo psoriáza. Tieto ochorenia patria k najrozšírenejším chronickým ochoreniam a preto vzbudzujú záujem v oblasti vývoja nových spôsobov liečby, kde figurujú aj AMP.

3.2.1 Atopická dermatitída

Atopická dermatitída je veľmi často vyskytujúce sa chronické zápalové ochorenie kože. Pri tomto ochorení je postihnutá *epidermis* i *dermis*, kde nastáva porucha bariérovej funkcie kože podmienená imuno-patogénnymi dejmi na úrovni vrodenej a získanej imunity a je

prítomný zápal s prevahou cytokinov typu 2 a mikrobiálna dysbióza. Toto ochorenie je sprevádzané morfológickými prejavmi ako sú erytémy, edémy alebo papuly, ktoré vyvolávajú intenzívne svrbenie a teda nepríjemný pocit na pokožke. Tieto prejavy sa môžu vyskytovať v okolí hlavy a tváre, a to najmä u detí, kde potom následne s vekom pribúdajú aj na iných častiach tela ako trup a končatiny. Atopická koža vykazuje zníženú expresiu AMP, ktorá je spojená so zvýšenou kolonizáciou *Staphylococcus aureus*. Pri tomto ochorení je zvýšená transepidermálna strata vody, takže je dôležitá častá hydratácia pokožky pre zlepšenie bariérovej funkcie. V spojitosti s atopickou dermatitídou bolo preukázané, že pri jedincovi so zhoršeným stavom tohoto ochorenia boli zvýšené hladiny α -defensinov 1-3, ktoré odpovedajú závažnosti ochorenia, intenzite svrbenia a hladine interleukinu 8 a imunoglobulínu E v krvi. Pri porovnaní zdravej kože a kože postihnutej atopickou dermatitídou boli zvýšené aj hodnoty ľudských β -defensinov. Napriek tomu bola ich hladina moc nízka na to, aby chránila kožu pred najčastejšími infekciami, ktoré môžu atopikov postihovať. Z tohoto dôvodu by mohli ľudské β -defensiny slúžiť ako doplnková liečba pre atopikov, kde by podporovali obnovu kožnej bariéry a tým chránili kožu pred možnými infekciami. [14, 15]

3.2.2 Acne vulgaris

Acne vulgaris je chronické zápalové ochorenie kože. Toto ochorenie sa najčastejšie vyskytuje u adolescentov, no môže sa objaviť aj u dospelých. Je spôsobené baktériou *Cutibacterium acnes* a je sprevádzané vytváraním papúl, pustúl a uzlíkov hlavne na tvári, no môžu sa vyskytovať aj na horných končatinách, trupe a chrbte. Spôsoby liečby závisia na závažnosti prípadu, kde pri miernych formách postačujú napríklad benzoylperoxid, kyselina azaelová alebo lokálne antibiotiká, avšak pri závažnejších prípadoch sa vyžaduje dlhodobé užívanie perorálnych antibiotík. Tieto antibiotiká môžu spôsobovať nepríjemne vedľajšie účinky ako pálenie, tvorenie šupín na koži, erytém alebo bielenie vlasov. Dlhodobé užívanie antibiotík opäť vedie k bakteriálnej rezistencii, preto sa začalo prihliadať na antimikróbne vlastnosti AMP, ktoré môžu byť možným riešením pri liečení tohoto ochorenia. Preukázali to hlavne *in vitro* testy v práci Woodburn a kol., kde boli proti baktériám *C. acnes* použité laboratórne syntetizované AMP, ktoré analogicky prirodzene pripomínajú prírodné AMP. Päť zo siedmich použitých AMP vykazovali antibakteriálnu aktivitu proti baktériám, a to aj voči baktériám rezistentným voči antibiotikám. [16, 17]

3.2.3 Psoriáza

Psoriáza je imunitne sprostredkované zápalové ochorenie chronického typu. Prejavuje sa kožnými léziami a býva sprevádzané inými ochoreniami, najčastejšie kardiovaskulárneho typu. Práve kardiovaskulárne ochorenia bývajú hlavnou príčinou úmrtia pacientov s psoriázou. Etiológia tohto ochorenia nie je úplne jasná, ale rolu hrajú genetické predispozície a môže sa vyskytnúť v každom veku. Psoriáza je spôsobená vzájomnými interakciami medzi T-lymfocytmi, neutrofilmi, dendritickými bunkami a keratinocytmi. Kožné lézie sa u pacientov vyskytujú po mechanickom strese kože, ale na miestach, kde bola koža zatiaľ zdravá. Tento jav sa označuje ako Koebnerov fenomén. Nové lézie môžu byť vyvolané aj pri rádioterapií, ultrafialovým žiarením alebo miernym podráždením kože. Predpokladom je, že mediátori podieľajúce sa na psoriáze sú prenášané zvýšeným prietokom krvi. Pri tomto ochorení sa AMP podieľajú na zápalových reakciách, kde figurujú ako chemotaxné činidlá a regulujú proliferáciu buniek. Tieto AMP sú vysoko exprimované psoriatickými léziami a slúžia ako prírodné antibiotikum. [25, 26, 27]

3.3 Hojenie rán

Hojenie rán je proces pozostávajúci z niekoľkých fáz. Medzi tieto fázy sa radí hemostáza, zápal, proliferácia a remodelácia. Hemostáza je prvou fázou, kde sa aktivujú krvné doštičky a následne vytvárajú zrazeninu. Pri tejto aktivite sa uvoľňujú rastové faktory, ktoré spúšťajú imunitnú odpoveď. Imunitná odpoveď spúšťa druhú fázu hojenia, zápal. Výskyt zápalu v mieste rany priťahuje imunitné bunky, ktoré uvoľňujú cytokíny. Pri tejto aktivite zohrávajú dôležitú úlohu katelicidiny, ktoré aktivujú monocyty, ktoré následne uvoľňujú cytokíny ovplyvňujúce zápal. V ďalšej fáze, proliferácií, sa tvorí epitel a obnovujú sa cievne kanály. Do miesta poranenia migrujú fibroblasty, ktoré formujú nové cievy a produkujú látky ako hyaluronan, kolagén alebo proteoglykany. V procese remodelácie sa zvyšuje hladina kolagénu typu I, ktorý patrí k hlavným zložkám kože. Bolo preukázané, že ľudský β -defensin-3, pochádzajúci z kože, napomáha pri urýchľovaní hojenia rán podporovaním angiogenézy a zvyšovaním migrácie a proliferácie fibroblastov. Ďalší defensin, defensin-1 vyskytujúci sa v produktoch včiel, uľahčuje migráciu keratinocytov a uzatvorenie rán. Dodávanie AMP v topických aplikáciách by mohlo mať za následok rýchlejšie a bezpečnejšie hojenie rán, bez výskytov infekcií komplikujúcich liečbu. [28]

3.4 AMP v liečbe kožných ochorení

Vďaka ich antimikróbnemu účinku, AMP sú veľmi študovanou témou v oblasti vývoja nových potencionálnych liečiv pre ochorenia rezistentné voči normálnym antibiotikám. Ako je spomenuté v kapitole 4.2.2, výskumy nasvedčujú antimikróbnu účinnosť AMP proti baktériám *C. acnes*, ktoré spôsobujú ochorenie *acne vulgaris*. Touto problematikou sa zaoberá napríklad práca výskumného tímu Woodburn a kol. Na výskum bolo využitých sedem synteticky pripravených antimikróbných peptidov (označených ako dAMP) o dĺžke 17 až 23 aminokyselín, ktoré sú analógmi prirodzene sa vyskytujúcich AMP so zníženou pravdepodobnosťou vzniku bakteriálnej rezistencie. Minimálna inhibičná koncentrácia dAMP bola od 0,5 do 32 g.ml⁻¹ proti desiatim klinickým izolátom *C. acnes*. Testy *in vitro* preukázali, že päť zo siedmich využitých peptidov bolo najaktívnejších, jeden vykazoval miernu aktivitu a jeden vykazoval zanedbateľnú aktivitu. Zároveň tieto peptidy vykazovali podobnú aktivitu pri izolátoch *C. acnes* rezistentných na antibiotiká. Peptidy boli testované aj na cytotoxicitu na ľudských keratinocytoch, kde preukázali absenciu cytotoxicity s viac ako 80% viabilitou buniek po osem hodinovej expozícii. Na základe získaných hodnôt sa stanovil terapeutický index, ktorý je pomerom koncentrácie dAMP, pri ktorej boli aktívne proti *C. acnes* bez vyvolania cytotoxicity. Veľkosť terapeutického indexu je priamo úmerná špecifickosti dAMP pri neutralizácii *C. acnes* buniek. Hodnoty terapeutického indexu, spolu s minimálnou inhibičnou koncentráciou a hodnotou EC₅₀, čo je dávka potrebná k usmrteniu 50 % keratinocytov, sú pre päť najúčinnějších peptidov uvedené v Tab.2. [16]

Tabulka 2: Päť najaktívnejších dAMP a ich terapeutický index zo štúdie [16]

Označenie dAMP	MIC [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	EC ₅₀ [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Terapeutický index
RP444	8	20	2,5
RP551	2	34,3	17,2
RP554	8	31	3,88
RP556	4	519	130
RP557	8	281	35,1

V inej štúdií, konkrétne výskumného tímu Theansungnoen a kol., kde sa zaoberali antimikróbnou účinnosťou šiestich krátkych syntetických peptidov. Skúmala sa ich antimikróbna aktivita voči baktérií *C. acnes*, ale okrem toho sa testovala účinnosť aj voči *S. epidermidis*, *S. aureus* a *C. albicans*. Štyri peptidy vykazovali dobrú antimikróbnu účinnosť voči *S. acnes*, s MIC v rozmedzí 64 – 128 mg.l⁻¹. Zároveň všetkých šesť peptidov

môže inhibovať proliferáciu *S. epidermidis*, *S. aureus* a *C. albicans*. Pri testoch cytotoxicity boli pomocou MTT testu sledované myšie makrofágy v prítomnosti navrhnutých peptidov. Dva peptidy nepreukázali žiadny vplyv na makrofágy, jeden vykazoval miernu cytotoxicitu a ďalšie dva by mohli preukázať aj zvýšenie životaschopnosti makrofágov. [29]

Výskumy tímu Wu a kol. sa zaoberali antimikrobiálnymi účinkami peptidu bombinin-like peptide 7 (BLP-7), ktorý sa vyskytuje u druhu žaby s názvom *Bombina orientalis*. Tento peptid bol pripravený synteticky a vedci skúmali jeho antimikróbne účinky proti *C. acnes*. Minimálna inhibičná koncentrácia BLP-7 bola 5 μM . Navyše tento peptid vykazoval veľmi dobrú odolnosť voči teplu, pH a testy cytotoxicity nepreukázali žiadnu významnú úmrtnosť normálnych ľudských epidermálnych keratinocytov. Pri testoch využitia BLP-7 na modeloch edému ucha potkanov preukázal tento AMP potláčanie zápalu kože, ktorý bol vyvolaný *C. acnes*. [30]

Štúdia Håkanssona a kol. sa zaoberala predklinickým hodnotením antimikrobiálnej aktivity AMP odvodeného od ľudského kininogenu (označenie DPK-060) zapracovaného do rôznych formulácií určených k lokálnemu podaniu. Štúdia preukázala, že DPK-060 formulovaný v acetátovom pufri alebo poloxamérovom géle spôsobil výrazné obmedzenie počtu baktérií *S. aureus in vitro* (minimálna mikrobicídna koncentrácia $< 5 \text{ g ml}^{-1}$). DPK-060 v poloxamérovom géle rovnako potlačoval mikrobiálne prežívanie v modeli infekcie rany *ex vivo* s použitím prasacej kože a *in vivo* na myšiach v modeli infekcie v mieste chirurgického zákroku (≥ 99 alebo $\geq 94\%$ zníženie počtu baktérií). DPK-060 enkapsulovaný v rôznych typoch lipidových nanočastíc alebo kuzozómov však nezlepšil za použitých testovacích podmienok baktericídni potenciál tohto peptidu. [31]

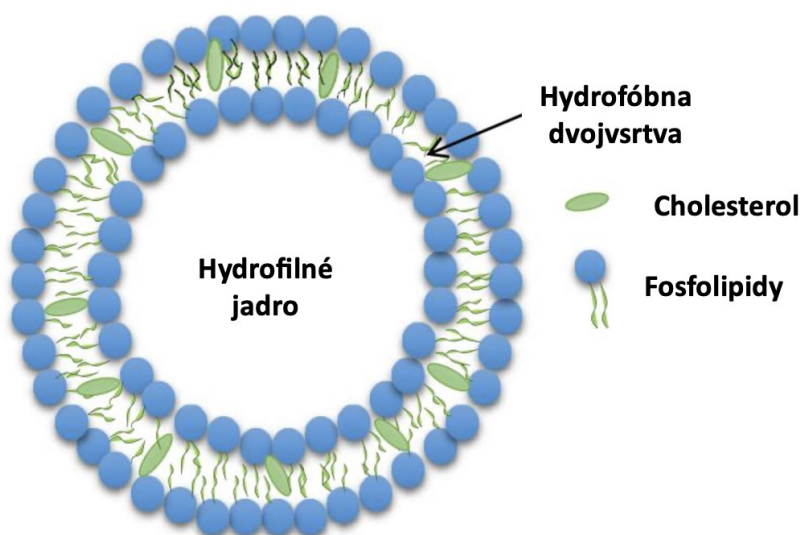
Tento peptid bol rovnako testovaný pri klinických testoch. Firma DermaGen AB použila synteticky vyrobený DPK-060, ktorý vykazuje širokospektrálnu antimikrobiálnu aktivitu *in vitro* proti gram-negatívnym a gram-pozitívnym baktériám. Pripravená masť s 1% obsahom DPK-060 bola aplikovaná probandom trpiacim atopickou dermatitídou a bolo preukázané, že po 14 dňoch aplikácie sa množstvo baktérií *S. aureus* v léziách znížilo o 94 až 99 %. [31, 32]

4 NOSIČE PRE AMP

Nosiče zohrávajú dôležitú úlohu pri dodávaní účinných látok na miesto určenia. Navrhovanie vhodných nosičov pre antimikróbne peptidy ale môže byť náročnou výzvou, vzhľadom na ich veľkosť, kladný náboj a amfifilnosť. [33] V tejto kapitole sú preto predstavené niektoré možné nosiče vhodné pre dodávanie AMP.

4.1 Lipozómy

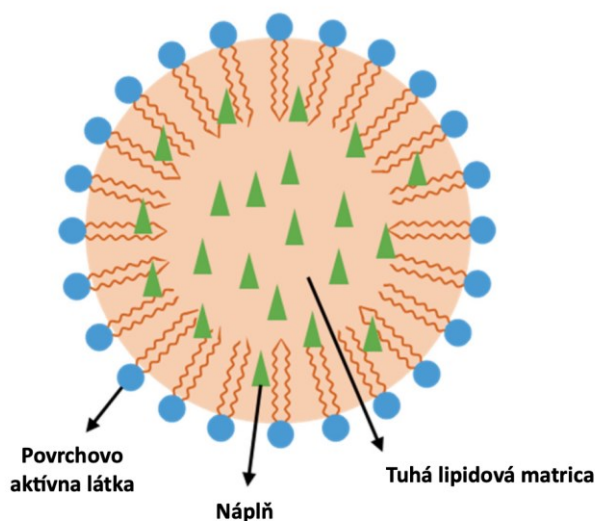
Lipozómy sú dvojvrstvy sférického tvaru zložené z fosfolipidov. V ich dvojvrstve môže byť prítomný aj cholesterol. Vodné jadro lipozómu môže prenášať hydrofilné látky, zatiaľ čo hydrofóbne aktívne látky sa môžu adsorbovať alebo začleniť do fosfolipidovej dvojvrstvy. Lipozómy sa ako nosiče osvedčili aj pre AMP. Ich výhodou je ľahká modifikácia ich fyzikálne-chemických vlastností zmenou zloženia lipidov alebo zmenou povlaku povrchu lipozómu. Lipozómy môžu AMP dodávať do buniek adsorbciou alebo endocytózou a majú zvýšený prienik do tkanív a zameranie sa na intracelulárne infekcie. Výhodou lipozómov je dobrá univerzálnosť pre enkapsulované AMP, napríklad môžu obsahovať LL-37, kolistín alebo vankomycín, ktoré si zachovávajú svoju antimikrobiálnu aktivitu a vykazujú aj vyššiu účinnosť. [34]



Obrázek 4: Schéma lipozómu [35]

4.2 Tuhé lipidové nanočastice (sLNP)

Tuhé lipidové nanočastice sú zložené z tuhej lipidovej matrice, ktorá je stabilizovaná povrchovo aktívnymi látkami. Medzi ich výhody patria možnosť použitia vo veľkom rozsahu aplikácií, vysoká náplň lipofilných látok a dobrá stabilita, a to aj v gastrointestinálnom trakte. Ich nevýhodou je však tendencia ku gélovaniu, predčasné uvoľňovanie aktívnej látky pri skladovaní, alebo vytlačanie obsahu z matrice z dôsledku kryštalickej štruktúry tuhých lipidov. [34]. Vo výskume tímu Severino a kol. boli pripravené sLNP s peptidom polymyxín B, kde výsledkom bol prípravok s baktericídnymi účinkami proti šiestim kmeňom *P. aeruginosa* rezistentným na antibiotiká. [46]. Vo výskume Fumakia a kol. boli pripravené sLNP obsahujúce kombináciu katelicidínu LL-37 a inhibítora elastázy (serpín A1). Výsledkom *in vitro* testov bolo zvýšenie antimikrobiálnej aktivity voči *E. coli* a MRSA, na rozdiel od sLNP obsahujúcich len jednu zo zložiek. Navyše tieto kombinované sLNP skrátili čas hojenia rán na králičej koži. [45]

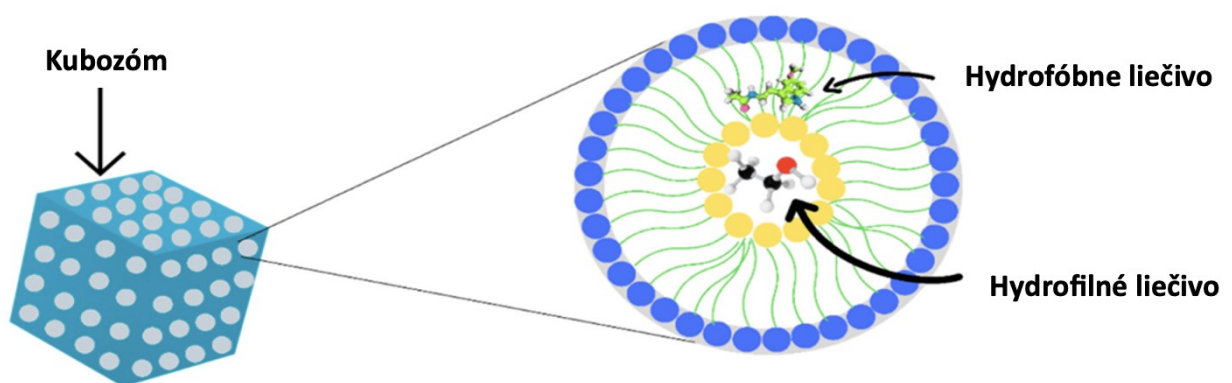


Obrázek 5: Schéma tuhej lipidovej nanočastice [36]

4.3 Kubozómy

Kubozómy sú ďalším potencionálnym nosičom pre AMP. Ich kubická štruktúra je tvorená určitými amfifilnými lipidmi, ktoré sú stabilizované pomocou vhodného stabilizátora. Sú populárne najmä pri podávaní liečiv perorálne alebo transdermálne a disponujú mnohými výhodami. Medzi spomínané výhody patrí veľký povrch, vysoká disperzia liečiva vďaka kubickej štruktúre, biologická odbúrateľnosť a relatívne ľahká výroba. Vďaka ich štruktúre, ktorá je tvorená amfifilnými lipidmi, sú schopné prenášať hydrofóbne, hydrofilné ale aj

amfifilné aktívne látky. Práve touto vlastnosťou sa líšia od lipozómov. Uvoľňovanie aktívnej látky z kuzozómu je riadené koncentračným gradientom, ktorý je hybnou silou ich difúzie. V práci výskumného tímu Boge a kol. sa zaoberali enkapsuláciou troch peptidov, AP114, DPK-060 a LL-37 v kuzozómoch pripravených z glycerol monooleátu a vody. Peptidy AP114 a DPK-060 si zachovali svoju antimikróbnu aktivitu voči baktériám *S. aureus* a *MRSA*, zatiaľ čo LL-37 vykazovalo stratu vo svojej širokospektrálnej antibakteriálnej účinnosti. [37, 38]



Obrázek 6: Schéma kuzozómu [37]

4.4 Mikrogély

Mikrogély pozostávajú z hydrogélových častíc, ktorých veľkosť sa pohybuje v mikrometroch. Veľmi často sa využívajú v biomedicínskych aplikáciách ako biomateriály alebo nosiče aktívnych látok. Ich schopnosť slúžiť aj ako nosič AMP závisí hlavne na dĺžke peptidu, jeho hydrofobite alebo náboji. Pri mikrogéle hrajú dôležitú úlohu jeho náboj alebo porozita. Tieto faktory sú kľúčové pri ochrane peptidu zakomponovaného do mikrogélu pred proteolytickou degradáciou. Vo výskume tímu Water a kol. boli skúmané mikrogély na báze kyseliny hyaluronovej ako nosiče peptidu novicidínu. Mikrogély naložené peptidom znižovali cytotoxicitu a zachovali antimikróbnu aktivitu peptidu proti *S. aureus* a *E. coli*. [33, 39, 40]

4.5 Polymérne nanočastice

Častice o veľkosti pohybujúcej sa v nanometroch, vyrobené z prírodných alebo syntetických polymérov sú intenzívne študovaným objektom vďaka ich potenciálu v prenášaní aktívnych látok. Práve preto môžu slúžiť aj ako nosiče pre AMP. Rýchlosť uvoľňovania AMP z nanočastice závisí na vlastnostiach polyméru použitého k ich príprave, napríklad na jeho molekulovej hmotnosti, hydrofóbnosti/hydrofilnosti alebo povrchovom náboji. Rolu v rýchlosti uvoľňovania hrajú taktiež vlastnosti peptidu. Aktívne látky sa z nanočastice môžu uvoľňovať pomocou difúzie, erózie alebo osmotickým tlakom. Polymérnymi časticami ako nosičmi pre AMP sa zaoberal aj výskumný tím Cerchiara a kol., kde predmetom výskumu bolo prípravenie nanočastíc na báze chitosanu, do ktorých sa následne enkapsuloval peptid vankomycín. Tento komplex bol následne testovaný *in vitro* v prítomnosti baktérií *S. aureus*. Výsledkom výskumu bolo zistenie, že dobrá antimikróbná aktivita použitého AMP voči *S. aureus* bola po enapsulácii zachovaná. [41, 42, 43]

Rôzne typy vyššie uvedených nosičov aktívnych látok majú svoje výhody i nevýhody vo vzťahu k dodaniu AMP na určené miesto použitia. V súčasnosti je dôležité výhody zvýšiť a zlepšiť účinnosť enkapsulácie do týchto nosičov, predĺžiť ich stabilitu a výslednú terapeutickú účinnosť a súčasne znížiť ich toxicitu. Za týmto účelom sa prevádza rada štúdií, ktoré sa sústreďujú na prípravu a charakterizáciu rôznych nosičov s obsahom AMP, stanovenie ich antimikrobiálnych účinkov a toxicity *in vitro in vivo*. Takéto štúdie môžu nakoniec viesť k vývoju bezpečného systému nosič/AMP pre účinné potieranie bakteriálnych infekcií.

ZÁVĚR

Nárast rezistencie baktérií voči antibiotikám v kombinácii s obecnou známou obťažnosťou liečby kožných ochorení predstavuje výzvu, ktorá by viedla k vývoji nových a terapeuticky účinných prístupov k liečbe kožných ochorení. Keďže v tejto oblasti rastie záujem o použitie prírodných molekúl s antimikrobiálnymi vlastnosťami, je výskum antimikrobiálnych peptidov prirodzeným smerom výskumu. Predstavená bakalárska práca poskytuje stručný prehľad problematiky AMP. Podáva základné informácie o AMP, ich štruktúre, vlastnostiach, zdrojoch/pôvode, syntéze, klasifikácii a použití. Sústreďuje sa tiež na AMP v koži a možnosti ich pôsobenia na typické kožné problémy, ako sú atopická dermatitída, akné a psoriáza. Okrem toho práca predstavuje príklady konkrétnych štúdií skúmajúcich účinnosť AMP pri ošetrovaní/liečbe týchto problémov. V práci sa rovnako odráža snaha zamyslieť sa nad zvýšením aktivity AMP za súčasného zníženia ich nežiaducich účinkov, čoho sa dá dosiahnuť začlenením AMP do vhodného nosiča. Sú preto predstavené najčastejšie používané nosičové systémy, napríklad časticové nosiče na báze lipidov (lipozómy, tuhé lipidové častice, kuzozómy), polymérov a tiež mikrogélov. Začlenením AMP do nosičov dochádza v praxi k zlepšeniu ich doručenia na miesto pôsobenia. Týmto spôsobom môže byť rovnako dosiahnutej synergetickej aktivity AMP a ďalších látok, ktoré sú schopné antimikrobiálne pôsobenie AMP zosilniť. V bakalárskej práci je spomenutá i dôležitá vlastnosť niektorých AMP, vhodných pre podporu hojenia rán, a to ich schopnosť zvýšiť bunecnú proliferáciu a migráciu. Čo sa týka návrhu konkrétneho AMP pre ďalšiu prácu, vykonaná rešerš naznačuje, že peptidy vhodnými pre ďalšiu prácu sú katelicidín LL-37 a jeho krátke analógy, napríklad KR-12. Tieto analógy sú jednoduchšie na syntézu a zachovávajú si svoju antibakteriálnu aktivitu. Vzhľadom na kompetenciu na Ústave technológie tukov, tenzidov a kozmetiky v oblasti nosičových systémov by bolo tiež vhodné sústrediť sa na voľbu vhodného typu nosiča pre enkapsuláciu zvoleného peptidu.

Vďaka uvedeným vlastnostiam sú AMP sľubnými látkami a počítajú sa s ich využitím v potieraní kožných infekcií, kde by mohli zohrať dôležitú rolu v nahradení dnes používaných antibiotík.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] DOSTÁL, Jiří. *Biochemie pro bakaláře*. Brno: Masarykova univerzita, 2003. ISBN 80-210-3232-4.

[2] CHEN, Na, Cheng JIANG, Grzegorz NOWICKI, Justyna BRONIARCZYK, Waldemar BUCHWALD a Anna GOŹDZICKA-JÓZEFIAK. Antimicrobial peptides: Structure, mechanism, and modification. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2023, **255**(3), 181-196 [cit. 2023-11-18]. ISSN 02235234. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejmech.2023.115377

[3] RAMAZI, Shahin, Neda MOHAMMADI, Abdollah ALLAHVERDI, Elham KHALILI, Parviz ABDOLMALEKI a Anna GOŹDZICKA-JÓZEFIAK. A review on antimicrobial peptides databases and the computational tools: Structure, mechanism, and modification. *Database* [online]. 2022, 2022-01-01, **2022**(3), 181-196 [cit. 2023-11-18]. ISSN 1758-0463. Dostupné z: doi:10.1093/database/baac011

[4] HUAN, Yuchen, Qing KONG, Haijin MOU a Huaxi YI. Antimicrobial Peptides: Classification, Design, Application and Research Progress in Multiple Fields. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2020, 2020-10-16, **11** [cit. 2023-11-18]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2020.582779

[5] NAWROT, Robert, Jakub BARYLSKI, Grzegorz NOWICKI, Justyna BRONIARCZYK, Waldemar BUCHWALD a Anna GOŹDZICKA-JÓZEFIAK. Plant antimicrobial peptides: Classification, Design, Application and Research Progress in Multiple Fields. *Folia Microbiologica* [online]. 2014, **59**(3), 181-196 [cit. 2023-11-18]. ISSN 0015-5632. Dostupné z: doi:10.1007/s12223-013-0280-4

[6] AKBARIAN, Mohsen, Ali KHANI, Sara EGHBALPOUR, Vladimir N. UVERSKY, Parviz ABDOLMALEKI a Anna GOŹDZICKA-JÓZEFIAK. Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, **23**(3), 181-196 [cit. 2023-11-18]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms23031445

[7] DE SMET, Kris a Roland CONTRERAS. Human Antimicrobial Peptides: Defensins, Cathelicidins and Histatins. *Biotechnology Letters* [online]. 2005, **27**(18), 1337-1347 [cit. 2023-11-28]. ISSN 0141-5492. Dostupné z: doi:10.1007/s10529-005-0936-5

- [8] KUMAR, Prashant, Jayachandran KIZHAKKEDATHU, Suzana STRAUS, Vladimir N. UVERSKY, Parviz ABDOLMALEKI a Anna GOŹDZICKA-JÓZEPIAK. Antimicrobial Peptides: Diversity, Mechanism of Action and Strategies to Improve the Activity and Biocompatibility In Vivo. *Biomolecules* [online]. 2018, **8**(1), 181-196 [cit. 2023-11-18]. ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom8010004
- [9] DOLEŽÍLKOVÁ, Ivana, Martina MACKOVÁ a Tomáš MACEK. Antimikrobiální peptidy: vztah mezi jejich strukturou a antibakteriální aktivitou. *Chemické listy* [online]. 2011, **105**(5), 10 [cit. 2023-12-06]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/1138/1138>
- [10] TIAN, Tiantian, Wansheng XIE, Luxuan LIU, Siting FAN, Heqian ZHANG, Zhiwei QIN a Chao YANG. Industrial application of antimicrobial peptides based on their biological activity and structure-activity relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2023, 2023-08-18, **63**(21), 5430-5445 [cit. 2023-11-28]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2021.2019673
- [11] HEIDARI, Mohammad, Amir HAMIR, Randall C CUTLIP a Kim A BROGDEN. Antimicrobial anionic peptide binds in vivo to Mannheimia (Pasteurella) haemolytica attached to ovine alveolar epithelium. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. 2002, **20**(1), 69-72 [cit. 2023-12-12]. ISSN 09248579. Dostupné z: doi:10.1016/S0924-8579(02)00048-1
- [12] HILCHIE, Ashley L, Kelli WUERTH, Robert E W HANCOCK a Kim A BROGDEN. Immune modulation by multifaceted cationic host defense (antimicrobial) peptides. *Nature Chemical Biology* [online]. 2013, **9**(12), 761-768 [cit. 2023-12-12]. ISSN 1552-4450. Dostupné z: doi:10.1038/nchembio.1393
- [13] PFALZGRAFF, Anja, Klaus BRANDENBURG a Günther WEINDL. Antimicrobial Peptides and Their Therapeutic Potential for Bacterial Skin Infections and Wounds. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 2018, 2018-3-28, **9** [cit. 2024-03-12]. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2018.00281
- [14] JOSHI, Aaroh Anand, Marc VOCANSON, Jean-Francois NICOLAS, Peter WOLF a Vijaykumar PATRA. Microbial derived antimicrobial peptides as potential therapeutics in atopic dermatitis. *Frontiers in Immunology* [online]. 2023, 2023-1-25, **14** [cit. 2024-03-12]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2023.1125635

- [15] GUTOVÁ, Václava. Současný přístup k diagnostice a léčbě atopického ekzému. *Pediatric pro Praxi* [online]. 2009, **10**(6), 4 [cit. 2024-03-12]. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2009/06/10.pdf>
- [16] WOODBURN, Kathryn W., Jesse JAYNES a L. Edward CLEMENS. Designed Antimicrobial Peptides for Topical Treatment of Antibiotic Resistant Acne Vulgaris. *Antibiotics* [online]. 2020, **9**(1), 4 [cit. 2024-03-12]. ISSN 2079-6382. Dostupné z: [doi:10.3390/antibiotics9010023](https://doi.org/10.3390/antibiotics9010023)
- [17] SUTARIA, Amita H., Sadia MASOOD, Haitham M. SALEH a Joel SCHLESSINGER. *Acne Vulgaris* [online]. 2023 [cit. 2024-03-12]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29083670/>
- [18] DORIN, Julia R., Brian J. MCHUGH, Sarah L. COX a Donald J. DAVIDSON. Mammalian Antimicrobial Peptides; Defensins and Cathelicidins. *Molecular Medical Microbiology* [online]. Elsevier, 2015, 539-565 [cit. 2024-03-12]. ISBN 9780123971692. Dostupné z: [doi:10.1016/B978-0-12-397169-2.00030-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00030-5)
- [19] YANG, Binbin, David GOOD, Tamim MOSAIAB, et al. Significance of LL-37 on Immunomodulation and Disease Outcome. *BioMed Research International* [online]. 2020, 2020-05-16, **2020**, 1-16 [cit. 2024-03-12]. ISSN 2314-6133. Dostupné z: [doi:10.1155/2020/8349712](https://doi.org/10.1155/2020/8349712)
- [20] MIAO, Jianyin, Haoxian GUO, Feilong CHEN, et al. Antibacterial Effects of a Cell-Penetrating Peptide Isolated from Kefir: Immunomodulatory Functions and Translational Prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. Singapore: Springer Singapore, 2016, 2016-04-27, **64**(16), 3234-3242 [cit. 2024-03-12]. Advances in Experimental Medicine and Biology. ISBN 978-981-13-3587-7. ISSN 0021-8561. Dostupné z: [doi:10.1021/acs.jafc.6b00730](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00730)
- [21] TAREQ, Fakir Shahidullah, Min Ah LEE, Hyi-Seung LEE, et al. Gageotetrins A–C, Noncytotoxic Antimicrobial Linear Lipopeptides from a Marine Bacterium *Bacillus subtilis*: Immunomodulatory Functions and Translational Prospects. *Organic Letters* [online]. Singapore: Springer Singapore, 2014, 2014-02-07, **16**(3), 928-931 [cit. 2024-03-12]. Advances in Experimental Medicine and Biology. ISBN 978-981-13-3587-7. ISSN 1523-7060. Dostupné z: [doi:10.1021/ol403657r](https://doi.org/10.1021/ol403657r)
- [22] KLÁSEK, Antonín, 2006. *Organická chemie: bakalářský směr*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. ISBN 80-731-8483-4.

[23] NESHANI, Alireza; ZARE, Hosna; AKBARI EIDGAHI, Mohammad Reza; KAMALI KAKHKI, Reza; SAFDARI, Hadi et al., 2019. LL-37: Review of antimicrobial profile against sensitive and antibiotic-resistant human bacterial pathogens. Online. *Gene Reports*. Roč. 17. ISSN 24520144. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100519>. [cit. 2024-05-08]

[24] DORIN, Julia R.; MCHUGH, Brian J.; COX, Sarah L.; DAVIDSON, Donald J.; SAFDARI, Hadi et al., 2015. Mammalian Antimicrobial Peptides; Defensins and Cathelicidins: Review of antimicrobial profile against sensitive and antibiotic-resistant human bacterial pathogens. Online. *Molecular Medical Microbiology*. Roč. 17, s. 539-565. ISBN 9780123971692. ISSN 24520144. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00030-5>. [cit. 2024-05-08].

[25] WU, J.J.; KAVANAUGH, A.; LEBWOHL, M.G.; GNIADDECKI, R.; MEROLA, J.F. et al., 2022. Psoriasis and metabolic syndrome: implications for the management and treatment of psoriasis. Online. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. Roč. 36, č. 6, s. 797-806. ISBN 9780123971692. ISSN 0926-9959. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jdv.18044>. [cit. 2024-05-08]

[26] KAMIYA, Koji; KISHIMOTO, Megumi; SUGAI, Junichi; KOMINE, Mayumi; OHTSUKI, Mamitaro et al., 2019. Risk Factors for the Development of Psoriasis: implications for the management and treatment of psoriasis. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. Roč. 20, č. 18, s. 797-806. ISBN 9780123971692. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms20184347>. [cit. 2024-05-08].

[27] TAKAHASHI, Toshiya; YAMASAKI, Kenshi; SUGAI, Junichi; KOMINE, Mayumi; OHTSUKI, Mamitaro et al., 2020. Psoriasis and Antimicrobial Peptides: implications for the management and treatment of psoriasis. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. Roč. 21, č. 18, s. 797-806. ISBN 9780123971692. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms21186791>. [cit. 2024-05-08].

[28] NASSERI, Sepideh; SHARIFI, Mohammadreza; SUGAI, Junichi; KOMINE, Mayumi; OHTSUKI, Mamitaro et al., 2022. Therapeutic Potential of Antimicrobial Peptides for Wound Healing: implications for the management and treatment of psoriasis. Online. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. Roč. 28, č. 1, s. 797-806. ISBN 9780123971692. ISSN 1573-3149. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10989-021-10350-5>. [cit. 2024-05-08].

- [29] THEANSUNGNOEN, Tinnakorn; PHOSRI, Santi; BUMRUNGTHAI, Sureewan; DADUANG, Jureerut; KLAYNONGSRUANG, Sompong et al., 2022. Novel non-cytotoxic antimicrobial peptides WSKK11 and WSRR11 with potent activity against *Cutibacterium acnes*: implications for the management and treatment of psoriasis. Online. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2022-04-01, roč. 77, č. 4, s. 1012-1019. ISBN 9780123971692. ISSN 0305-7453. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jac/dkac014>. [cit. 2024-05-08].
- [30] WU, Yun; QIANG, Yuanyuan; CAO, Kun; ZHANG, Wei; ZHANG, Guangxian et al., 2020. Inhibitory effect of the antimicrobial peptide BLP-7 against *Propionibacterium acnes* and its anti-inflammatory effect on acne vulgaris: implications for the management and treatment of psoriasis. Online. *Toxicon*. Roč. 184, č. 4, s. 109-115. ISBN 9780123971692. ISSN 00410101. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.06.006>. [cit. 2024-05-08].
- [31] HÅKANSSON, Joakim; RINGSTAD, Lovisa; UMERSKA, Anita; JOHANSSON, Jenny; ANDERSSON, Therese et al., 2019. Characterization of the in vitro, ex vivo, and in vivo Efficacy of the Antimicrobial Peptide DPK-060 Used for Topical Treatment: implications for the management and treatment of psoriasis. Online. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019-5-28, roč. 9, č. 4, s. 109-115. ISBN 9780123971692. ISSN 2235-2988. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00174>. [cit. 2024-05-08].
- [32] MACHADO, Manuela; SILVA, Sara; COSTA, Eduardo M.; JOHANSSON, Jenny; ANDERSSON, Therese et al., 2023. Are Antimicrobial Peptides a 21st-Century Solution for Atopic Dermatitis?: implications for the management and treatment of psoriasis. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. Roč. 24, č. 17, s. 109-115. ISBN 9780123971692. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms241713460>. [cit. 2024-05-08].
- [33] BORRO, Bruno C.; NORDSTRÖM, Randi a MALMSTEN, Martin, 2020. Microgels and hydrogels as delivery systems for antimicrobial peptides. Online. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. Roč. 187. ISSN 09277765. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.110835>. [cit. 2024-05-08].
- [34] VAN GENT, Miriam E.; ALI, Muhanad; NIBBERING, Peter H. a KŁODZIŃSKA, Sylvia N., 2021. Current Advances in Lipid and Polymeric Antimicrobial Peptide Delivery Systems and Coatings for the Prevention and Treatment of Bacterial Infections.

Online. *Pharmaceutics*. Roč. 13, č. 11. ISSN 1999-4923. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111840>. [cit. 2024-05-08].

[35] NSAIRAT, Hamdi; KHATER, Dima; SAYED, Usama; ODEH, Fadwa; AL BAWAB, Abeer et al., 2022. Liposomes: structure, composition, types, and clinical applications. Online. *Heliyon*. Roč. 8, č. 5. ISSN 24058440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09394>. [cit. 2024-05-08].

[36] NGUYEN, Thi-Thao-Linh; DUONG, Van-An; NIBBERING, Peter H.; KŁODZIŃSKA, Sylvia N.; AL BAWAB, Abeer et al., 2022. Solid Lipid Nanoparticles: structure, composition, types, and clinical applications. Online. *Encyclopedia*. Roč. 2, č. 2, s. 952-973. ISSN 2673-8392. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/encyclopedia2020063>. [cit. 2024-05-08].

[37] SIVADASAN, Durgaramani; SULTAN, Muhammad H.; ALQAHTANI, Saad S.; JAVED, Shamama; AL BAWAB, Abeer et al., 2023. Cubosomes in Drug Delivery—A Comprehensive Review on Its Structural Components, Preparation Techniques and Therapeutic Applications: structure, composition, types, and clinical applications. Online. *Biomedicines*. Roč. 11, č. 4, s. 952-973. ISSN 2227-9059. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11041114>. [cit. 2024-05-08].

[38] BOGE, Lukas; BYSELL, Helena; RINGSTAD, Lovisa; WENNMANN, David; UMERSKA, Anita et al., 2016. Lipid-Based Liquid Crystals As Carriers for Antimicrobial Peptides: Phase Behavior and Antimicrobial Effect. Online. *Langmuir*. 2016-05-03, roč. 32, č. 17, s. 4217-4228. ISSN 0743-7463. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b00338>. [cit. 2024-05-08].

[39] ALZANBAKI, Hamzah; MORETTI, Manola; HAUSER, Charlotte A. E.; JAVED, Shamama; UMERSKA, Anita et al., 2021. Engineered Microgels—Their Manufacturing and Biomedical Applications: Phase Behavior and Antimicrobial Effect. Online. *Micromachines*. Roč. 12, č. 1, s. 4217-4228. ISSN 2072-666X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/mi12010045>. [cit. 2024-05-08].

[40] WATER, Jorrit J.; KIM, YongTae; MALTESEN, Morten J.; FRANZYK, Henrik; FOGED, Camilla et al., 2020. Hyaluronic Acid-Based Nanogels Produced by Microfluidics-Facilitated Self-Assembly Improves the Safety Profile of the Cationic Host Defense Peptide Novicidin: Phase Behavior and Antimicrobial Effect. Online. *Pharmaceutical Research*.

Roč. 187, č. 1, s. 4217-4228. ISSN 0724-8741. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11095-015-1658-6>. [cit. 2024-05-08].

[41] DARAMOLA, Oluyemi Ojo; ADARA, Peace; ADEWUYI, Benjamin Omotayo; SADIKU, Emmanuel Rotimi; KUPOLATI, Williams Kehinde et al., 2022. Polymer nanoparticles (nanomedicine) for therapeutic applications: Phase Behavior and Antimicrobial Effect. Online. *Polymeric Biomaterials for Healthcare Applications*. Roč. 187, č. 1, s. 71-123. ISBN 9780323852333. ISSN 0724-8741. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85233-3.00003-3>. [cit. 2024-05-08].

[42] THAPA, Raj Kumar; DIEP, Dzung B.; TØNNESEN, Hanne Hjorth; SADIKU, Emmanuel Rotimi; KUPOLATI, Williams Kehinde et al., 2021. Nanomedicine-based antimicrobial peptide delivery for bacterial infections: recent advances and future prospects. Online. *Journal of Pharmaceutical Investigation*. Roč. 51, č. 4, s. 377-398. ISBN 9780323852333. ISSN 2093-5552. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40005-021-00525-z>. [cit. 2024-05-08].

[43] CERCHIARA, T.; ABRUZZO, A.; DI CAGNO, M.; BIGUCCI, F.; BAUER-BRANDL, A. et al., 2015. Chitosan based micro- and nanoparticles for colon-targeted delivery of vancomycin prepared by alternative processing methods: recent advances and future prospects. Online. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. Roč. 92, č. 4, s. 377-398. ISBN 9780323852333. ISSN 09396411. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.004>. [cit. 2024-05-08].

[44] KIM, Eun Young; RAJASEKARAN, Ganesan a SHIN, Song Yub, 2017. LL-37-derived short antimicrobial peptide KR-12-a5 and its d-amino acid substituted analogs with cell selectivity, anti-biofilm activity, synergistic effect with conventional antibiotics, and anti-inflammatory activity. Online. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Roč. 136, s. 428-441. ISSN 02235234. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.028>. [cit. 2024-05-13]

[45] FUMAKIA, Miral a HO, Emmanuel A., 2016. Nanoparticles Encapsulated with LL37 and Serpin A1 Promotes Wound Healing and Synergistically Enhances Antibacterial Activity. Online. *Molecular Pharmaceutics*. 2016-07-05, roč. 13, č. 7, s. 2318-2331. ISSN 1543-8384. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.6b00099>. [cit. 2024-05-13].

[46] SEVERINO, Patrícia; SILVEIRA, Elisânia F.; LOUREIRO, Kahynna; CHAUD, Marco V.; ANTONINI, Danilo et al., 2017. Antimicrobial activity of polymyxin-loaded solid lipid nanoparticles (PLX-SLN): Characterization of physicochemical properties and in vitro efficacy. Online. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. Roč. 106, č. 7, s. 177-184. ISSN 09280987. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.05.063>. [cit. 2024-05-13].

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

- ABP Antibakteriální peptid
- ACP Protinádorový peptid
- AFP Antimykotický peptid
- AMP Antimikrobiální peptid
- APP Antiparazitický peptid
- AVP Antivirový peptid
- DNA Deoxyribonukleová kyselina
- EC₅₀ Polovica maximálnej účinnej koncentrácie
- MIC Minimálna inhibičná koncentrácia
- MRSA Meticilin-rezistentný zlatý stafylokok
- RNA Ribonukleová kyselina
- sNLP Tuhé lipidové nanočástice
- UC Univerzálny klasifikačný systém

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Štruktúrny vzorec dipeptidu [22]	11
Obrázek 2: Základné štruktúry AMP, a) β -skladaný list, b) α -helix, c) voľná štruktúra [9]12	
Obrázek 3: Modely membránového mechanizmu pôsobenia AMP [4]	19
Obrázek 4: Schéma lipozómu [35]	28
Obrázek 5: Schéma tuhej lipidovej nanočastice [36].....	29
Obrázek 6: Schéma kubo-zómu [37].....	30

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Minimální inhibiční koncentrace LL-37 pro vybrané bakterie [23]..... 17

Tabulka 2: Pět nejaktivnějších dAMP a jejich terapeutický index ze studie [16]26