



**Lipidomická sekce**  
České společnosti pro biochemii a molekulární biologii

## Sborník příspěvků 6. České lipidomické konference

14.-15. června 2018, Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha

**Organizační výbor:**

doc. RNDr. Josef Cvačka, Ph.D. (Ústav organické chemie a biochemie AVČR, v.v.i., Praha)

prof. Ing. Michal Holčapek, Ph.D. (Univerzita Pardubice)

RNDr. Ondřej Kuda, Ph.D. (Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha)

Ing. Miroslav Lísa, Ph.D. (Univerzita Hradec Králové)

RNDr. Vladimír Vrkoslav, Ph.D. (Ústav organické chemie a biochemie AVČR, v.v.i., Praha)

<http://lipidomics.uochb.cas.cz/>

Název sborníku: Sborník příspěvků 6. České lipidomické konference, 14.-15. června 2018, ÚOCHB AV ČR, Praha

Editor: Ondřej Kuda

on-line (e-sborník)

ISBN 978-80-86241-59-3

Vydal: Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6

červen 2018

Praha

## SPONZOŘI:

zlatý sponzor

[Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.](#)

[Pragolab](#)



ÚOCHB AV  
IOCB PRAGUE

pragolab

stříbrný sponzor

[AMEDIS](#)

AMEDIS

distributor of **SCIEX**

[HPST](#)



bronzový sponzor

[Chromservis](#)

**CHROMSERVIS**

[Merck](#)

**MERCK**

[Waters](#)

**Waters**  
THE SCIENCE OF  
WHAT'S POSSIBLE.™

[Chemagazin](#)

**CHEMAGAZÍN**

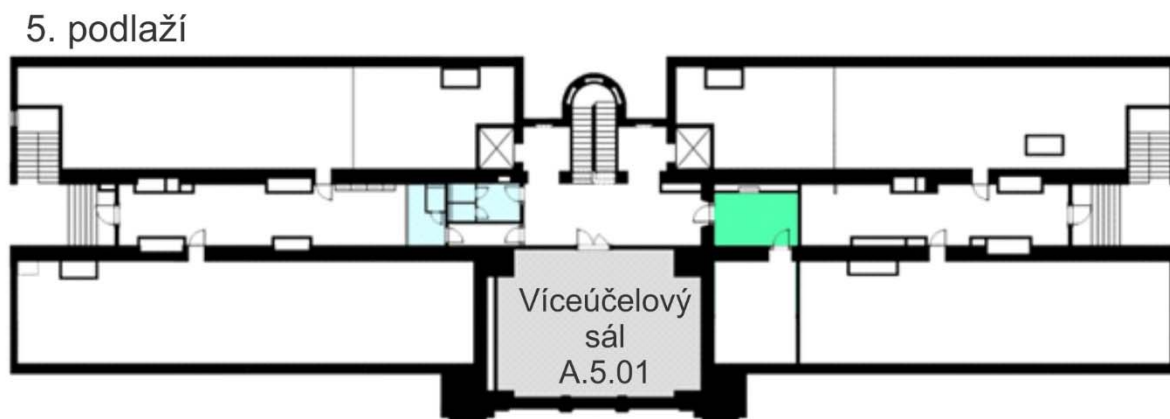
## MÍSTO KONÁNÍ

[Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.](#), Flemingovo náměstí 542/2, 166 10, Praha 6

- Metro A, Dejvická, → pěšky cca 300 m
- Tram, bus, zastávka Lotyšská, → pěšky cca 200 m

Autem - parkování možné na okolních placených parkovištích, například [www.garazedejvice.cz](http://www.garazedejvice.cz) v Národní technické knihovně. Parkování je možné i v okolních ulicích, ale pozor na modré zóny.

Detail místa konání:



Pro přesun mezi patry je možné využít schodiště a výtahy.

## PROGRAM

SEKCE **A**: Biologie lipidů

SEKCE **B**: MS analýzy lipidů

SEKCE **C**: MALDI analýzy lipidů

SEKCE **D**: Lipidy v dietě

SEKCE **E**: Lipidomika

POSTEROVÁ SEKCE

V přednáškovém sále bude k dispozici promítací technika. Prezentace prosím nahrávejte do počítače před začátkem dané sekce. Jiné formáty než pptx (MS Office 2010 a vyšší), videa v prezentaci, vlastní laptop hlaste předem. Formát 4:6 a nebo 16:10.

Postery budou přístupné od začátku konference do pátku 15.6.do 11:00h ve víceúčelovém sále, přičemž diskuze u posterů budou probíhat během přestávek a zejména při postrové sekci 14.6. v 17:20 - 18:00. Součástí konference je i posterová soutěž.

Zvaní přednášející:

**Dr. Aleš Svatoš**



Research Group Mass Spectrometry  
Max Planck Institute for Chemical  
Ecology  
Hans-Knöll-Straße 8  
Jena, Germany

**Lukasz Cwiklik, PhD, DSc**



J. Heyrovsky Institute of Physical  
Chemistry CAS  
Dolejskova 2155/3  
18223 Prague  
Czech Republic

## **STRAVOVÁNÍ**

V rámci konference bude zajištěno občerstvení během přestávek (teplé nápoje, nealkoholické nápoje, sladké a slané občerstvení, ovoce). Oběd zajištěn není, ale je možné individuálně využít restauraci Café Organica vedle přednáškového sálu. Její kapacita je však omezena. Je možné využít nabídky menz a restauraci v blízkém okolí.

## **SPOLEČENSKÁ VEČEŘE**

Na čtvrteční večer je plánována společenská večeře pro účastníky, kteří si účast na večeři označili při registraci, v restauraci Café Organica od 18:00h do ~21:00h. Díky sponzorům je večeře bezplatná. Večeře bude probíhat formou bufetu. Bude na výběr ze tří hlavních chodů (jedno vegetariánské), dvou druhů salátů, dvou druhů dezertů, ovoce, nealkoholických nápojů, piva a vína. Konzumace nad rámec menu si hradí účastníci sami.

Program Čtvrtek 14.6.2018

od - do	#	název přednášky	místo
09:00 - 09:40		registrace	

SEKCE A: Biologie lipidů - Josef Cvačka

Přednáškový sál

09:40 - 09:50		Josef Cvačka: Zahájení konference	
09:50 - 10:50	A1	Lukazs Cwiklik: Tear Film Lipid Layer – challenges at the molecular level	
10:50 - 11:10	A2	Margarita Sobol: Discovery of the nucleoplasmic phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate islets which are required for efficient RNA polymerase II transcription	
11:10 - 11:30	A3	Marie Březinová: Nrf2-mediated Antioxidant Defense and Peroxiredoxin 6 are Linked to Biosynthesis of Palmitic Acid Ester of 9-Hydroxystearic Acid.	

11:30 - 13:00		přestávka na oběd / individuálně	
		občerstvení / posterová sekce	Víceúčelový sál

SEKCE B: MS analýza lipidů - Miroslav Lída

Přednáškový sál

13:00 - 13:50	B1	Tomáš Čajka: Tutorial - Lipidomics: From Sample Preparation to Data Analysis	
13:50 - 14:10	B2	Radana Karlíková: Metabolická studie tauopatie – má smysl opakovat experiment?	
14:10 - 14:30	B3	Josef Cvačka: Characterization of lipids associated with the fetal skin	
14:30 - 14:50	B4	Lukáš Plaček: Moderní analytické nástroje v lipidomice	

14:50 - 15:20		přestávka / občerstvení / posterová sekce	Víceúčelový sál
---------------	--	---	-----------------

SEKCE C: MALDI analýza lipidů - Vladimír Vrkoslav

Přednáškový sál

15:20 - 16:20	C1	Aleš Svatoš: Analytické metody pro rychlou charakterizaci lipidomu	
16:20 - 16:40	C2	Robert Jirásko: Lipidomická analýza tělních tekutin s využitím MALDI-Orbitrap-MS pro včasnou diagnostiku renálního buněčného karcinomu	
16:40 - 17:00	C3	Štěpán Strnad: Optimalizace a využití 1,5-diaminonaftalenu pro sledování změn distribuce lipidů při studiu neurodegenerativních poruch	

17:00 - 17:20	C4	Dominika Luptáková: Membrane depolarization and aberrant lipid distributions in the neonatal rat brain following hypoxic-ischaemic insult
---------------	----	---

17:20 - 18:00	posterová sekce	Víceúčelový sál
---------------	-----------------	-----------------

18:00 - 21:00	společenská večeře	Cafe Organica
---------------	--------------------	---------------

Program Pátek 15.6.2018

od - do	#	název přednášky	místo
08:00 - 08:30		registrace	

SEKCE D: Lipidy v dietě - Ondřej Kuda

Přednáškový sál

08:30 - 09:10	D1	David Friedecký: Tutorial - Analýza jednorozměrných a vícerozměrných dat
---------------	----	--

09:10 - 09:30	D2	Marina Oseeva: Omega-3 index v české populaci
---------------	----	---

09:30 - 09:50	D3	Tomáš Komprda: Effect of dietary eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on lipopolysaccharide-induced inflammation in pigs
---------------	----	---

09:50 - 10:10	D4	Jan Kovář: Glucose and fructose differently affect hepatic fat content immediately after a high-fat load - magnetic resonance spectroscopy study
---------------	----	--

10:10 - 10:30	D5	Anthony Zerlin: BUME Application Adapted to the Bravo Liquid Handler
---------------	----	--

10:30 - 11:00	přestávka / občerstvení / posterová sekce	Víceúčelový sál
---------------	---	-----------------

SEKCE E: Lipidomika - David Friedecký

Přednáškový sál

11:00 - 11:20	E1	Jaroslav Turánek: Aminoxy lipids for orthogonal binding of polysaccharides onto liposomes via click chemistry: application for drug targeting and construction of molecular adjuvants.
---------------	----	--

11:20 - 11:40	E2	Tomáš Korba: LC/MS/MS Lipidomics Analysis using HILIC Separation and QTRAP quantitation
---------------	----	---

11:40 - 12:00	E3	Tomáš Řezanka: Enantiomeric separation of triacylglycerols containing very long chain fatty acids
---------------	----	---

12:00 - 12:20	E4	Miroslav Machala: Toxikolipidomika: nová oblast zkoumání toxicity a bezpečnosti cizorodých agens
12:20 - 12:40	E5	Pavel Vebr: Snížení reperfuzních arytmií po chladové adaptaci je provázáno zvýšeným podílem n-3 PUFA v srdci potkana.
12:40 - 12:50		Oficiální ukončení konference

#		Postery
P1	Timotej Strmeň	A new method for the identification of double bond positions using aldrithiol-2 and electrospray mass spectrometry
P2	Aneta Kalužíková	Fatty Acid Esters of Hydroxy Fatty Acids in Vernix Caseosa
P3	Lukáš Opálka	The Effects of Omega-O-Acylceramides on Microstructure and Permeability of Model Skin Lipid Membranes
P4	Roman Hájek	Determination of Gangliosides and Other Polar Lipids Between Kidney Tumor and Surrounding Normal Tissues Using HILIC/ESI-MS
P5	Santosh Kumar Adla	Steroidal inhibitors of N-methyl-D-aspartate receptors with C-3 amide structural motif: Evaluation of their inhibitory effect, cytotoxicity and plasma stability
P6	Martin Jaček	Sledování hladiny trans mastných kyselin v mateřském mléce
P7	Andrej Kováčik	PROBING THE ROLE OF CERAMIDE POLAR HEAD IN MODEL SKIN LIPID MEMBRANES: PERMEABILITY AND BIOPHYSICS
P8	Barbora Amélie Čuříková	In vitro model of atopic dermatitis for testing barrier repairing agents
P9	Aneta Vovesná	Vývoj lipozomálních nosičů pro obnovu kožní bariéry
P10	Pavla Průchová	Vliv užívání kotvičnicku zemního na hladinu endogenních steroidů
P11	Petr Žáček	GCxGC/MS as a tool for study of lipogenesis in white adipose tissue
P12	Jan Kotouček	Mechanism of liposome formation by microfluidic mixing: the concept based on lipid bilayer fragments vesiculation
P13	Adolf Koudelka	Protective role of nitro-oleic acid in development of vascular dysfunction
P14	Vít Kosek	Critical assessment of plasma lipidome of patients on total parenteral nutrition





## **A1: Tear Film Lipid Layer – challenges at the molecular level**

Lukasz Cwiklik

(1) J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

(2) Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

The ocular surface of the human eye is protected by the tear film (TF), an aqueous multilayered structure. The interface between the tear film and air is covered by Tear Film Lipid Layer (TFLL), a relatively thin and dynamic layer of various lipids. This lipid layer constitutes an outermost barrier between the eye and environment and as such has several important functions. It reduces surface tension of tears, provides smooth optical surface, retards water evaporation. Importantly, TFLL is also the first eye structure encountered by pathogens as well as topically administered ophthalmic drugs. TF and TFLL deficiencies lead to evaporative dry eye disease, one of the commonly reported eye ailments.

Despite its importance, most of aspects of TFLL composition, structure and function are not clear. It is composed from an abundance of nonpolar lipids produced by Meibomian glands and forming a thick nonpolar layer. It also contains, crucial for its spreading at the eye, polar lipids, mostly of unknown origin, assumed to form a polar monolayer. Detailed lipidomic studies of TF and TFLL were performed recently but results, due to practical problems such as sample collection issues, film dynamics or inter-patient variability, are not conclusive.

In this lecture, composition, structure and basic functions of TFLL will be discussed, mostly from a molecular biophysics viewpoint. This will include our recent experimental and in silico results. Special focus will be given to the issues which are still scientifically debated.

## **A2: Discovery of the nucleoplasmic phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate islets which are required for efficient**

### **RNA polymerase II transcription**

Margarita Sobol (1), Alžběta Krausová (1), Sukriye Yildirim (1), Ilona Kalasová (1), Veronika Fáberová (1), Vladimír Vrkoslav (2), Vlada Philimonenko (1,3), Pavel Marášek (1), Lukáš Pastorek (1,3), Martin Čapek (4), Zuzana Lubovská (3), Livia Uličná (1), Takuma Tsuji (5), Miroslav Lísa (6), Josef Cvačka (2), Toyoshi Fujimoto (5), Pavel Hozak (1,7,8)

(1) *Institute of Molecular Genetics, CAS, v.v.i., Department of Biology of the Cell Nucleus, Vídeňská 1083, 142 20, Prague 4, Czech Republic.* (2) *Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, CAS, v.v.i., Research Service Group of Mass Spectrometry, Flemingovo náměstí 2, 166 10, Prague 6, Czech Republic.* (3) *Institute of Molecular Genetics, CAS, v.v.i.,*

The presence of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>) as well as the enzymes and substrates involved in its metabolism in the interior of the cell nucleus was shown during the last decades. It was proposed that the intranuclear PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> together with various proteins might be bound in larger complexes. Here we show that in the cell nucleus PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> associates with RNA polymerase II, transcription factors, nuclear myosin 1, and nascent RNA transcripts. Strikingly, we revealed that this intranuclear PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> forms 40–100-nm structures distinguishable from well-known nuclear speckles and nucleoli. We refer to these novel structures as nuclear lipid islets (NLIs). We demonstrated that the surface of NLIs contains mainly PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> molecules, while ceramide, cholesterol, and RNA are the minor components. We showed that the inner part of NLIs is composed of carbon-rich compounds. Moreover, we found that the nucleoplasmic PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> specifically associates with phosphatidylcholines, phosphatidylethanolamines, triacylglycerols, and sphingomyelins. Remarkably, we demonstrated that the integrity of NLIs is required for efficient Pol II-driven transcription. Based on all our data we suggest that NLIs might facilitate the clustering of Pol II transcription factories thus contributing to the formation of the transcription-competent nuclear architecture. Acknowledgements: GACR/GA16-03346S; TACR/TE01020118; ERDF/CZ.1.05/1.1.00/02.0109, CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_013/0001775; CAS/JSPS-18-18; IMG/RVO:68378050; MEXT/15H05902, 15K21738.

### **A3: Nrf2-mediated Antioxidant Defense and Peroxiredoxin 6 are Linked to Biosynthesis of Palmitic Acid Ester of 9-Hydroxystearic Acid.**

Kuda O, [Brezinova M](#), Silhavy J, Landa V, Zidek V, Dodia C, Kreuchwig F, Vrbacky M, Balas L, Durand T, Hübner N, Fisher AB, Kopecky J, Pravenec M.

*(1) Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Videnska 1083, 14220 Praha 4, Czech Republic*

Fatty acid esters of hydroxy fatty acids (FAHFAs) are lipid mediators with promising anti-diabetic and anti-inflammatory properties that are formed in white adipose tissue (WAT) via de novo lipogenesis, but their biosynthetic enzymes are unknown. Using a combination of lipidomics in WAT, QTL mapping and correlation analyses in rat BXH/HXB recombinant inbred strains, and response to oxidative stress in murine models, we elucidated the potential pathway of biosynthesis of several FAHFAs. Comprehensive analysis of WAT samples identified ~160 regioisomers documenting the complexity of this lipid class. The linkage analysis highlighted several members of Nuclear factor, erythroid 2-like 2 (Nrf2)-mediated antioxidant defense system (Prdx6, Mgst1, Mgst3), lipid-handling proteins (Cd36, Scd6, Acnat1, Acnat2, Baat) and family of Flavin Containing Monooxygenase (Fmo) as the positional candidate genes. Transgenic expression of Nrf2 and deletion of Prdx6 genes resulted in reduction of palmitic acid ester of 9-hydroxystearic acid (9-PAHSA) and 11-PAHSA levels, while oxidative stress induced by an inhibitor of glutathione synthesis increased PAHSA levels nonspecifically. Our results indicate that the synthesis of FAHFAs via carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP)-driven de novo lipogenesis depends on the adaptive antioxidant system and suggest that FAHFAs may link activity of this system with insulin sensitivity in peripheral tissues.

This work was supported by grants from the Czech Science Foundation (GA16-04859S and GJ17-10088Y) and the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (LTAUSA17173). This work is supported by the project BIOCEV (CZ.1.05/1.1.00/02.0109) through the European Regional Development Fund.

## **B1: Lipidomics: From Sample Preparation to Data Analysis**

Tomas Cajka

*Department of Metabolomics, Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic*

Analysis of lipids has become an area of great interest due to increasing evidence of lipids dysregulation in many pathologies. Advances in mass spectrometry have had a big impact on overall lipidomics workflows over the last decade. Analytical protocols were streamlined and fast data acquisition mass spectrometers were introduced, enabling collecting multiple types of mass spectrometric data within a single run. However, keeping up high quality of acquired data within a lipidomics study represents a real challenge. In this presentation we will discuss the complete lipidomics workflow, including current trends and pitfalls related to (i) sample type, preprocessing conditions, and sample preparation, (ii) analytical methods (shotgun vs. LC-MS-based lipidomics), (iii) data processing and lipid identification, and (iv) quality control.

## **B2: Metabolická studie tauopatie – má smysl opakovat experiment?**

Radana Karlíková 1,2, David Friedecký 1,2 Štěpán Kouřil, 1,2, Kateřina Mičová 1,2, Lukáš Najdekr 1,2, Tomáš Adam 1,2, Petra Majerová 3,4, Andrej Kováč 3,4

*1. Laboratoř metaboliky, Lékařská Fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci 2. Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc 3. Institut neuroimmunologie, Slovenska akademie věd, Bratislava 4. AXON Neuroscience R&D, Bratislava*

Tauopatie se řadí do skupiny neurodegenerativních onemocnění (včetně Alzheimerovy choroby), které jsou charakterizované výskytem abnormálně modifikovaného proteinu Tau. V mozkové tkáni, přestává hyperfosforylovany a zkráceny Tau protein plnit svou funkci, agreguje se do forem neurofibrilních klubek (NTF) narušujících strukturu neuronů. Metabolická analýza je vhodným nástrojem pro odhalení biomarkerů tauopatie a biochemických změn vyvolaných přítomností NTF - přímo ovlivňujících mozkovou tkáň, nepřímo pak složení cerebrospinální tekutiny (CSF) a plasmy. Byla provedena cílena a necílena metabolická LC/MS analýza vzorků CSF, plasem a mozkových tkání transgenních krys exprimujících Tau protein (SHR72) a kontrol (SHR). Byly aplikovány HILIC pro cílenou analýzu metabolitů (Triple Quad 6500, Sciex) a RP pro necílenou analýzu polárních lipidů (LTQ Orbitrap Elite, Thermo Fisher Scientific). V jednotlivých matricích (CSF/plasma/mozková tkáň) bylo nalezeno 96/163/243 metabolitů a 390/762/422 "features" definovaných přesnou hmotou a retenčním časem. Data byla zpracována a statisticky vyhodnocena (interpolace, clr transformace, PCA, OPLS-DA) v R programu za použití příslušných balíčků. Byly nalezeny změny v metabolitech citrátového cyklu, metabolismu purinových nukleotidů a hladině glukosy naznačující energetickou depleci u vzorků transgenních krys s tauopatií. Dále byly detekovány významné metabolické rozdíly v metabolismu argininu a hladinách polárních lipidů - fosfatidylcholinů. V příspěvku bude diskutován význam nezávislé konfirmační studie na nových vzorcích a následně dán do souvislosti se statistickou silou studie, která bývá často opomíjena jakožto důležitý parametr při plánování experimentu. Limitace a praktický dopad bude prezentován na datech výše uvedeného projektu. grantová podpora: GA ČR 18-12204S, VEGA 2/0159/15, APVV-14- 0547, NPU I (LO1304), strukturální fondy 26240220008, 26240220046. Autoři děkují Axon Neuroscience R&D za poskytnutí transgenních krys.

### **B3: Characterization of lipids associated with the fetal skin**

Josef Cvačka 1,2, Vladimír Vrkoslav 1, Eva Harazim 1,2, Michal Hoskovec 1, Aneta Kalužiková 1,2, Radka Míková 1,2, Jan Rejšek 1,2, Lenka Šubčíková 1,2, Antonín Doležal 3, Richard Plavka 3

*1 Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Czech Academy of Sciences, Flemingovo nám. 2, CZ-166 10 Prague, Czech Republic; 2 Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, Hlavova 2030/8, CZ-128 43 Prague, Czech Republic; 3 Department of Obstetrics and Gynaecology, General Faculty*

During fetal development of the skin, the epidermis changes from a single layer of ectodermal cells into a stratified keratinized epithelium. The desquamated cells and a lipid secretion of sebaceous glands form a biofilm called vernix caseosa. It progressively coats fetus during the last trimester of pregnancy and it is frequently found on the baby skin at birth. Vernix caseosa is believed to have several biological functions. Its wound healing and antimicrobial properties are attractive for medicine. Vernix caseosa consists of water, proteins, and a complex mixture of lipids. Although the investigations of lipid composition have started several decades ago, the entire lipidome of vernix caseosa has not been described comprehensively yet. In our work, we attempt to fill a gap in existing knowledge on the lipid composition of vernix caseosa. We search for new lipid classes to disclose their general structures and comprehensively characterize molecular species. Our approach is based on chromatography and mass spectrometry. The workflow starts with the isolation of the total lipid extract, which is fractionated in several steps using adsorption chromatography. A mixture of the molecular species from a single lipid class is then characterized in detail. To establish a general structure of a new lipid class, various techniques based on the tandem and high-resolution mass spectrometry and chemical derivatizations are used. Once the general structure is known, a comprehensive characterization of the molecular species is performed. The chain length and number of double bonds is established for each species. This approach is demonstrated for lipid classes we have recently discovered in vernix caseosa, namely  $\omega$ -(O-acyl)-hydroxy fatty acids and their cholesteryl esters and 1-O-acylceramides. A detailed characterization of 1,2-diol diesters is also shown. This work was supported by the Czech Science Foundation (Project No. P206/12/0750).

## **B4: Moderní analytické nástroje v lipidomice**

Lukáš Plaček

*Pragolab s.r.o.*

Dosažení dech beroucích pokroků ve významných oblastech proteomických, metabolomických a zvláště pak lipidomických studií se odrazilo též na vývoji nových analytických instrumentů - od přípravy vzorku, přes separační techniky až po detekční koncovku s implementací propracovaných softwarových nástrojů.

Snaha eliminovat náročné manuální operace podpořila rozvoj automatizace v přípravě vzorků. Autosamplery nové generace disponují nejen očekávanou utilitou dávkování pro chromatografické a hmotnostně spektrometrické aplikace, ale též jako univerzální nástroj s automatizačními prvky v on-line spojení se separační technikou či jako samostatně stojící jednotka. Robotická platforma PAL RTC švýcarské společnosti CTC Analytics může pojmout např. moduly pro transport kapalin i celých vialek, manipulaci s víčkem, moduly pro agitaci, třepání či centrifugaci a bez zásahu operátora tak provést komplexní extrakci kapalina-kapalina, derivatizaci, zakoncentrování, apod.

Hlad po automatizaci se však projevil i v požadavcích na záchyt co nejvíce spektrálních informací malých molekul metabolomických a lipidomických studií a efektivního překladač do věrohodné identifikace/strukturní analýzy. Nový tribridní hmotnostní spektrometr ID-X se snaží naplnit tato očekávání v kombinaci orbitální pasti, kvadrupólu a lineární iontové pasti, díky fragmentačním technikám CID a HCD a hlavně pomocí automatických akvizitních algoritmů AcquireX pro maximalizaci identifikovaných analytů.



## **C1: Analytické metody pro rychlou charakterizaci lipidomu**

Aleš Svatoš(1,2), Jerrit Weißflog (2)

(1) *Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Prague, The Czech Republic*

(2) *Max Planck Institute for Chemical Ecology, Jena, Germany*

Rychlá charakterizace lipidomu pro vědecké i medicínální účely je velmi žádaná. Hmotnostní spektrometrie má prozatím menší zastoupení v klasické medicínální analýze, ale má mnohem větší vypovídací schopnost oproti současným klinickým metodám.

V příspěvku shrneme naše výsledky z vývoje matric pro MALDI a MAILD analýzu mastných kyselin a komplexních lipidů na chemických standardech a na vzorcích surové krve. Minimální příprava vzorků a rychlost jejich analýzy, spolu s vysokou citlivostí hmotnostní spektrometrie, otevírá nové možnosti pro klinickou biochemii.

Shroff, R., Rulíšek, L., Doubský, J., Svatoš, A. (2009). Acid-base-driven matrix-assisted mass spectrometry for targeted metabolomics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(25), 10092-10096. doi:10.1073/pnas.0900914106

Weißflog, J., Svatoš, A. (2016). 1,8-Di(piperidinyl)-naphthalene – rationally designed MAILD/MALDI matrix for metabolomics and imaging mass spectrometry. *RSC Advances*, 6, 75073-75081. doi:10.1039/C6RA17237G

## **C2: Lipidomická analýza tělních tekutin s využitím MALDI-Orbitrap-MS pro včasnou diagnostiku renálního buněčného karcinomu**

Robert Jirásko [1], Denise Wolrab [1], Ivana Brabcová [1], David Vrána [2], Vladimír Študent [3], Bohuslav Melichar [2] a Michal Holčápek [1]

*[1] Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Studentská 573, Pardubice 532 10; [2] Onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého, I.P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc; [3] Urologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého, I.P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc*

Renální buněčný karcinom (RCC) je nejčastějším typem rakoviny ledvin. Incidence a mortalita na RCC se ve světě neustále zvyšují a v současné době nejsou zatím žádné screeningové testy pro jeho včasnou diagnostiku. V této práci je studován potenciál MALDI-Orbitrap-MS lipidomické analýzy v klinické studii pacientů s RCC a zdravých dobrovolníků s cílem najít dysregulace lipidů vzniklých v důsledku tohoto závažného onemocnění. Lipidické extrakty tělních tekutin jsou připraveny modifikovanou Folchovou metodou (plazma) a SPE extrakcí na reverzní fázi (moč). Pro měření hmotnostních spekter je využito MALDI LTQ Orbitrap systému v módu pro měření záporně nabitých iontů s nastaveným rozlišením 100 000 ( $m/z$  400) a jako MALDI matrice je aplikován 9-aminoakridin. Nejprve je provedena identifikace jednotlivých přítomných lipidů v plasmě a moči na základě vysoké správnosti určení hodnot  $m/z$  a měření MS/MS spekter. Následně je provedena optimalizace a validace metody pro semikvantitativní měření studovaných lipidů ve vzorcích tělních tekutin. Každé měření je reprezentováno jedním zprůměrovaným MALDI-MS spektrem se stovkami  $m/z$  píků o různých intenzitách, které jsou automaticky porovnávány s vytvořenou databází lipidů pomocí Excel VBA skriptu. Pro stanovení rozdílů mezi vzorky RCC pacientů a zdravých dobrovolníků jsou vygenerovaná data dále zpracována multidimenzionálními statistickými postupy: nesupervizovanou analýzou hlavních komponent (PCA-X) a supervizovanou metodou částečných nejmenších čtverců (OPLS-DA). Nejvíce up- a down-regulované lipidy ve vzorcích RCC plazmy a moči jsou finálně vizualizovány pomocí krabicových grafů. Tato práce je podpořena Grantovou agenturou ČR (projekt č. 18-12204S).

### **C3: Optimalizace a využití 1,5-diaminonaftalenu pro sledování změn distribuce lipidů při studiu neurodegenerativních poruch**

Štěpán Strnad, David Sýkora, Josef Cvačka, Lenka Maletínská, Vladimír Vrkoslav

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 166 28 Praha 6, Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i. , 166 10 Praha 6*

Alzheimerova choroba je neurodegenerativní onemocnění mozku a je jednou z hlavních příčin demence. Je charakterizována akumulací  $\beta$ -amyloidních plaků a hyperfosforylací Tau proteinu v mozku. Technikou MALDI hmotnostně spektrometrického zobrazování byly nedávno objeveny změny profilu lipidů v místech akumulace amyloidních plaků v myším modelu neurodegenerace. Pro analýzu byla použita matrice 1,5-diaminonaftalen (DAN) nanášená sublimací. V prezentované práci porovnááme tři techniky pro nanášení matrice – sublimaci a sprejování matrice DAN pomocí dvou automatických sprejerů založených na rozdílných principech (ImagePrep – Bruker; iMatrixSpray – Tardo GmbH). Metody byly optimalizovány a porovnány z hlediska reprodukovatelnosti nanášení, velikosti krystalů a jejich stability ve vakuu. Nejvhodnější technika byla použita ke studiu změn lipidových profilů v různých částech mozku myšího modelu neurodegenerace THY-Tau22. V THY-Tau22 modelu dochází pouze k akumulaci hyperfosforylovaného Tau proteinu. Experimenty byly provedeny na přístroji UltrafleXtreme MALDI-TOF (Bruker, Německo). Data byla analyzována pomocí statistického softwaru SCiLS Lab 2016b (SCiLS GmbH, Německo). Nanášení matrice sublimací DAN vedlo k nereprodukovatelným výsledkům, protože matrice odsublímovávala během měření ve vysokém vakuu iontového zdroje. ImagePrep a iMatrixSpray poskytly homogenní pokrytí vzorku, které bylo reprodukovatelné a stabilní během měření. Optimální roztok pro nanášení matrice pro oba sprejery obsahoval 10 mg/ml DAN v 70% acetonitrilu. Počet detekovaných látek a jejich intenzita byla u obou sprejerů podobná. Nicméně, iMatrixSpray měl dvě technické výhody. Nanášení matrice bylo výrazně rychlejší a docházelo k tvorbě krystalů cca 4  $\mu$ m dlouhých, které umožňují měření MALDI-MSI s vyšším prostorovým rozlišením. Optimalizovaná metoda byla použita pro porovnání distribuce lipidů THY-Tau22 a kontrolních vzorků. Porovnání distribuce lipidů statistickými metodami neodhalilo žádné významné změny. Výsledky naznačují, že změny v lipidech (jejich složení a koncentrace) pravděpodobně nejsou spojeny s akumulací hyperfosforylovaného Tau proteinu v THY-Tau22 myším modelu neurodegenerace. Tato práce byla realizována v rámci projektů OPPK CZ.2.16/3.1.00/21537 a CZ.2.16/3.1.00/24503 za podpory projektu NPU I LO1601. Dále byla podpořena projektem RVO 61388963.

#### **C4: Membrane depolarization and aberrant lipid distributions in the neonatal rat brain following hypoxic-ischaemic insult**

Dominika Luptáková<sup>1</sup>), Ladislav Bačiak<sup>2</sup>), Tomáš Pluháček<sup>1,3</sup>), Anton Škríba<sup>1</sup>), Blanka Šedivá<sup>1</sup>), Ivo Juránek<sup>4</sup>), Vladimír Havlíček<sup>1</sup>)

*1)Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences, Prague 4, 142 20, Czech Republic, 2)Slovak University of Technology, Central Laboratories, Bratislava, 812 37, Slovakia, 3)RCPTM, Department of Analytical Chemistry, Olomouc, 771 47, Czech Republic, 4)Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Centre of Experimental*

Neonatal hypoxic-ischemic (HI) encephalopathy is among the most serious complications in neonatology. Despite adaptation of the therapeutic hypothermia into standard neonatology care, adjuvant treatment is needed. A six-hour time period of the HI insult (HII) is critical for diagnosis and effective therapeutic intervention. Using Rice-Vannucci's model, comprising the permanent ligation of left common carotid artery in 7-day-old rats and their exposure to 90 min hypoxia at 34 °C (8% oxygen), we studied the immediate (0 hour), subacute (36 hour) and late (144 hour) responses of the neonatal brain by in vivo diffusion-weighted magnetic resonance imaging (DW-MRI), in situ molecular MALDI mass spectrometry imaging (MALDI MSI), elemental laser ablation inductively coupled plasma MSI (LA-ICP-MSI) and light microscopy. Cerebrospinal fluid, plasma and urine samples were collected from HI affected rats at 36 hours after the HII and analyzed by liquid chromatography MS (LC-MS). In vivo experiments showed that the immediate edema response due to HII was of cytotoxic origin. At the striatal level, the MSI revealed an aberrant plasma membrane distribution of Na<sup>+</sup> /K<sup>+</sup> ions in the edema-affected areas also apparent in the MRI measurements demonstrating intracellular water accumulation. During the subacute phase, an incipient accumulation of an array of N-acylphosphatidylethanolamine (NAPE) molecules was detected in the HI-affected brains and both the cytotoxic and vasogenic types of edema were detected. Moreover, abnormal distributions of the monosialogangliosides GM2 and GM3 were observed. During the late stage, a partial restoration of the brain tissue was observed in the in vivo and in situ studies. Specific molecular changes may be further utilized in neonatology in proposing and testing novel therapeutic strategies for the treatment of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. Detection of promising biomarkers in body fluids can help to intervene in time and to individualize care by enabling assessment of the treatment efficacy.

## **D1: Analýza jednorozměrných a vícerozměrných dat**

David Friedecký, Alžběta Gardlo, Julie Rendlová, Radana Karlíková, Štěpán Kouřil, Kateřina Mičová, Tomáš Adam

*Laboratoř metabolomiky, Lékařská Fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci & Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc*

Statistická analýza biologických dat často představuje pro chemiky těžko uchopitelný problém. Výsledky statistických testů jsou natolik abstraktní, že je tendence se vyhnout komplexnímu statistickému vyhodnocení. Pochopit úskalí a kritická místa jednotlivých statistických testů je pak problematika sama o sobě a i přes snahu statistiků se jen velmi těžko hledá společný jazyk. V příspěvku budou prezentovány parametrické i neparametrické jednorozměrné metody, nesupervizované i vícerozměrné metody, problematika odlehých hodnot, správné nastavení experimentu, grafické znázornění výsledků/dat a další. Nejedná se o encyklopedický přehled testů, ale o pokus ukázat, jak se dívat na data a umět si vytvořit vlastní realistický pohled na výsledky v porovnání s daty, která vstupují do analýzy. grantová podpora: GA ČR 18-12204S, NPU I (LO1304)

## **D2: Omega-3 index v české populaci**

Marina Oseeva (1), Veronika Paluchova (1), Petr Zacek (2), Petra Janovska (1), Jan Kopecky (1), Ondrej Kuda (1)

*(1) Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Videnska 1083, 14220 Praha 4, Czech Republic*

*(2) Proteomics Core Facility, Faculty of Science, Charles University, Division BIOCEV, Vestec, Czech Republic.*

Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) are omega-3 fatty acids, essential nutrients for health; however, mammals are barely unable to synthesize it and obliged to consume fish and fish-oil products. The aim of the study as a part of QUALITAS project is to explore omega-3 index of people who live in Czech Republic. For this purpose red blood cells were collected from volunteers and treated with a mixture of water, methanol and tert-butyl methyl ether to extract triglycerides. Triglycerides were converted into fatty acid methyl esters (FAMES) by transesterification using methanol with sodium methoxide as a catalyst. FAMES profile was measured by two-dimensional gas chromatography coupled with mass spectrometry.

This work is supported by the project BIOCEV (CZ.1.05/1.1.00/02.0109) through the European Regional Development Fund and the Czech Science Foundation (Project No. 18-04483S)

### **D3: Effect of dietary eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on lipopolysaccharide-induced inflammation in pigs**

Tomáš Komprda, Petra Ondráčková, Monika Vícenová, Veronika Rozíková, Martin Faldyna

*Mendelova univerzita v Brně; Výzkumný ústav veterinárního lékařství Brno*

A hypothesis that eicosapentaenoic acid (EPA) + docosahexaenoic acid (DHA) ingested at an amount of 100 mg/kg of live weight and day (administered in the form of fish oil, FO) ameliorates a systemic inflammation was tested. Two groups of pigs of 8 animals each were fed 70 days a diet with either FO (F) or a control diet with palm oil (P). Pigs were challenged i.v. by lipopolysaccharide, after 3 h were sacrificed, and blood, liver and visceral adipose tissue (VAT) samples were taken. Less neutrophils (16.8% v. 28.8%;  $P < 0.05$ ) were found in the F-leukocytes of the peripheral blood; F-pigs had lower ( $P < 0.05$ ) percentage of the swine leukocyte antigen-D-related CD163+ (SLA-DR+ CD163+) macrophages in the VAT (15.4% v. 21.8%) and lower expression of the SLA-DR-CD163+ surface molecules of the VAT macrophages. No difference ( $P > 0.05$ ) between F- and P-pigs in the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , GPR120, Adipor1 and Adipor2 (adiponectin receptor) gene expression, respectively, was established; plasma adiponectin was the same (21.1 ng/ml) in F- and P-pigs. In comparison with the P-pigs, increased expression of the lipopolysaccharide-binding protein (LBP) gene and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) gene was found out in the liver of the F-pigs; expression of the tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) gene was higher in the liver but lower in the VAT of the F-pigs ( $P < 0.05$ ). The F-pigs had higher ( $P < 0.05$ ) plasma concentration of both anti-inflammatory cytokine interleukin-4 (0.46 v. 0.04 ng/ml) and pro-inflammatory TNF- $\alpha$  (13.41 v. 7.72 ng/ml). It was concluded that dietary EPA+DHA at the tested amount had a negligible effect on expression of the evaluated receptor genes and plasma adiponectin, and had an ambiguous effect on expression of cytokine genes and plasma cytokine

## **D4: Glucose and fructose differently affect hepatic fat content immediately after a high-fat load - magnetic resonance spectroscopy study**

Jan Kovář, Tereza Blahová, Miloslav Drobný, Petr Šedivý, Monika Dezortová, Kateřina Zemánková, Milan Hájek

*Institut klinické a experimentální medicíny, Praha*

### **Aim:**

As non-alcoholic fatty liver disease becomes a major health issue, the mechanisms responsible for an increased hepatic fat content (HFC) need to be better understood. Therefore we tested whether high-fat load can induce the change of HFC detectable by magnetic resonance spectroscopy (MRS) during 6 hours and whether such an effect can be modified by dietary carbohydrates.

### **Methods:**

10 healthy volunteers (BMI:  $26.9 \pm 2.7 \text{ kg/m}^2$ ; HFC  $1.8 \pm 0.8\%$ ) underwent 5 experiments lasting 8 hours. HFC was determined using MRS three times in each experiment – after overnight fast and three (T=3h) and six hours later (T=6h). Plasma triglyceride, NEFA, glucose, and insulin were monitored throughout the experiments. The experiments differed by the food given to subjects after first HFC determination:

- 150g of fat (dairy cream) at T=0h;
- 150g of fat (T=0h) and 3 x 50g of glucose (T=0h, T=2h T=4h);
- 150g of fat (T=0h) and 3 x 50g of fructose (T=0h, T=2h T=4h);
- 3 x 50 g of glucose (T=0h, T=2h, T=4h);
- fasting

Results: HFC increased to  $119 \pm 19\%$  six hours after administration of fat and to  $117 \pm 17\%$  after fat with fructose. HFC did not change after administration of fat with glucose nor during fasting and decreased to  $85 \pm 13\%$  after administration of glucose alone. The HFC changes corresponded to changes in plasma NEFA and TG.

### **Conclusion:**

High-fat load induces the increase of HFC and such an effect is modified by dietary carbohydrates.

Supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr.16-28427A and MH CZ-DRO (IKEM, IN 00023001). All rights reserved.



## **D5: BUME Application Adapted to the Bravo Liquid Handler**

Anthony Zerlin

*HPST*

The Bravo Liquid Handler is a very flexible instrument that is widely used for many applications. Recently a Lars Löfgren et. al. in Sweden developed an application on their Bravo reflecting the BUME protocol for chloroform-free total lipid extraction. This presentation will show the key features of the Bravo and the process and protocol on BUME that was developed and shown.

## **E1: Aminoxy lipids for orthogonal binding of polysaccharides onto liposomes via click chemistry: application for drug targeting and construction of molecular adjuvants.**

Jaroslav Turánek<sup>1</sup>, Eliška Bartheldyová<sup>1</sup>, Josef Mašek<sup>1</sup>, Pavlína Turánek-Knotigová<sup>1</sup>, František Hubatka<sup>1</sup>, Jan Kotouček<sup>1</sup>, Roman Effenberg<sup>2</sup>, Miroslav Ledvina<sup>2</sup>, Ema Paulovičová<sup>3</sup>, Milan Raška<sup>1,4</sup>

*1) Veterinary Research Institute, Brno; 2) University of Chemistry and Technology Prague; , 3) Institute of Chemistry, Center for Glycomics Slovak Academy of Sciences; 4) Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc*

New synthetic aminoxy lipids are designed and synthesized as building blocks for the formulation of functionalised nanoliposomes by microfluidisation using a NanoAssemblr<sup>®</sup>. Orthogonal binding of hyaluronic acid or mannan onto the outer surface of functionalised nanoliposomes via aminoxy coupling (N-oxy ligation) is achieved at hemiacetal function of hyaluronic acid and the structure of hyaluronic acid-liposomes and mannan liposomes is visualised by transmission electron microscopy and cryo- transmission electron microscopy. Observed structures are in a good correlation with data obtained by dynamic light scattering (size and  $\zeta$ -potential). In vitro experiments on cell lines expressing CD44 receptors demonstrate selective internalisation of fluorochrome-labelled hyaluronic acid-liposomes, while cells with down regulated CD44 receptor levels exhibit very low internalisation of hyaluronic acid-liposomes. Liposomal manna was proved as immunomodulator in human and mice dendritic cells. Method based on microfluidisation mixing was developed for preparation of monodispersive unilamellar liposomes containing aminoxy lipids and orthogonal binding of hyaluronic acid onto the liposomal surface was demonstrated. These hyaluronic acid-liposomes represent a potentially new drug delivery platform for CD44-targeted anticancer drugs as well as for immunotherapeutics and vaccines. The structure of mannan-liposomes was visualized by transmission and scanning electron microscopy, including immunogold staining of recombinant mannan receptor bound onto mannosylated-liposomes. Observed structures are in a good correlation with data obtained by DLS, NTA, and TPRS methods. In vitro experiments on human and mouse dendritic cells demonstrate selective internalization of fluorochrome-labelled mannan-liposomes and their ability to stimulate DC was comparable to lipopolysaccharide.

## **E2: LC/MS/MS Lipidomics Analysis using HILIC Separation and QTRAP quantitation**

Tomáš Korba

*AMEDIS, Praha*

Single injection targeted LC-MRM method for quantitation of more than 1300 lipid molecular species was developed using HILIC separation, fast polarity switching and Scheduled MRM acquisition. Various internal standard strategies enable relative and absolute quantitation. The performance of the method was demonstrated in bovine heart extract and brain lipidome analysis.

### **E3: Enantiomeric separation of triacylglycerols containing very long chain fatty acids**

Tomáš Řezanka

*The Czech Academy of Sciences, Institute of Microbiology, Vídeňská 1083, 142 20 Prague 4, Czech Republic*

Enantiomers of triacylglycerols (TAGs) containing any combination of very long chain fatty acids (VLCFAs) and/or very long chain polyunsaturated fatty acids (VLCPUFAs) with diolein, dilinolein and didocosahexaenoin were synthesized. Gradient non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography/high resolution atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry (NARP-HPLC/HRMS2-APCI) and chiral liquid chromatography were used for the separation and identification of molecular species of these TAGs. Further, NARP-LC and chiral LC were used to separate natural mixtures of TAGs obtained from four natural sources, i.e. ximenia oil (*Ximenia americana*), greenalga (*Botryococcus braunii*), brewer's yeast (*Saccharomyces pastorianus*) and a dinoflagellate (*Amphidinium carterae*). The ratio of regioisomers and enantiomers in individual samples was determined and a hypothesis has been confirmed on the biosynthetic pathway of natural TAGs, which is based on the preferential representation of VLCFAs and VLCPUFAs in the sn-1 position of the glycerol backbone.

## **E4: Toxikolipidomika: nová oblast zkoumání toxicity a bezpečnosti cizorodých agens**

Miroslav Machala

*Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno*

Lipidomika je rychle se rozvíjející obor, nicméně je dosud málo informací o efektech cizorodých agens jako jsou viry, léčiva a environmentální chemické kontaminaty na lipidom buněk. Na příkladu studia hladin sfingolipidů (látek, které mají svou strukturní roli v membránách, ale jsou zároveň lipidními signálními molekulami) v buněčných modelech bude ukázáno, jak uvedené agens modulují hladiny sfingolipidů (např. inhibicí dihydroceramiddesaturázy) a jaké tyto modulace mají konsekvence na osud buněk (zastavení buněčného cyklu, stres endoplasmatického retikula, indukci apoptózy, inhibici mezibuněčné komunikace atd.). Budou prezentována data, které kombinují LC/MS/MS analýzy sfingolipidů se stanovením exprese genů a proteinů zapojených do metabolismu sfingolipidů i do regulací uvedených buněčných procesů. [Tyto studie byly podpořeny projektem OPVVV MŠMT "FIT".]

## **E5: Snížení reperfučních arytmií po chladové adaptaci je provázeno zvýšeným podílem n-3 PUFA v srdci potkana**

Vebr Pavel, Marvanová Aneta, Horníková Daniela, Vecka Marek, Kolář František, Nováková Olga a Žurmanová Jitka

*Karlova Univerzita, Praha, PŘFUK, Katedra fyziologie*

Choroby srdce, zejména ischemická choroba srdeční, jsou nejčastější příčinou úmrtí ve vyspělých zemích. Proto současný výzkum hledá způsoby jak posílit endogenní protektivní dráhy v srdci. V naší studii jsme vycházeli z předpokladu, že otužování, tzn. adaptace na chlad, má benefiční účinky na kardiovaskulární systém. Cílem naší práce bylo změřit počet a závažnost ischemicko-reperfučních arytmií a zároveň stanovit podíl antiarytmických n-3 polynenasycených mastných kyselin (n-3 PUFA) ve fosfolipidech (PLP) myokardu potkana. Potkany kmene Wistar (200g) jsme vystavili 5-týdennímu chladu (CL,  $6\pm 1^{\circ}\text{C}$ , ve dvojicích, podestlané) a následné 2-týdenní regresí při kontrolní teplotě  $26^{\circ}\text{C}$  (CLR). Arytmie byly sledovány v průběhu ischemie levé komory, která byla navozena podvazem levé koronární artérie na ventilovaném zvířeti v hluboké anestezii, a následné 3-hodinové reperfúzi. Mastné kyseliny byly stanoveny ze sept zmrazených v tekutém dusíku následovně. Z lipidového extraktu myokardu byly pomocí TLC izolovány fosfolipidy. Následně byly připraveny metylestery mastných kyselin, které kvantitativně analyzovány pomocí GC. Naše výsledky ukázaly snížení reperfučních arytmií po CL o 40% a současné zvýšení n-3 PUFA v PLP srdce o 20%, zatímco po dvou týdnech regrese tyto změny odezněly. Závěrem lze říci, že zvýšení n-3 PUFA v PLP myokardu se může podílet na antiarytmickém účinku chladové adaptace.

## **P1: A new method for the identification of double bond positions using aldrithiol-2 and electrospray mass spectrometry**

Timotej Strmeň (a,b), Josef Cvačka (a,b)

*a) Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Czech Academy of Sciences, Mass Spectrometry Group, Flemingovo nám. 166 10 Prague 6, Czech Republic b) Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, 128 43 Prague 2, Czech Republic*

Unsaturated lipids are very important components of numerous biochemical processes. The positions of their double bonds have significant implications for their chemical, biochemical and biophysical roles. Mass spectrometry is a useful technique for structural characterization of compounds via fragmentation. However, the fragmentation spectra of unsaturated lipids mostly do not reveal the double bond location in their molecules, therefore an appropriate derivatization is needed. Several derivatization methods have been developed, mostly for electron ionization mass spectrometry. In our work, a new derivatization method with aldrithiol-2 (2,2'-dipyridyl disulfide) is being developed. Aldrithiol-2 introduces a pyridine ring into the lipid molecules making them detectable with electrospray mass spectrometry. Compared to widely used dimethyl disulfide (DMDS) derivatization, aldrithiol-2 does not form cyclic adducts when the double bonds are too close to each other. Several unsaturated compounds were derivatized with aldrithiol-2, including hydrocarbons, fatty alcohols, fatty acids or their methyl esters and amides and triglycerides. The double bond position was established from the MS<sub>2</sub> spectra for most lipids. In case of triacylglycerols, additional step (MS<sub>3</sub>) was required. In addition to aldrithiol-2, structurally similar aldrithiol-4 (4,4'-dipyridyl disulfide) was tested as a derivatization reagent. Aldrithiol-4 didn't react with unsaturated compounds, therefore the nitrogen position in aldrithiol plays a major role in the reaction mechanism. The reaction mechanism of aldrithiol-2 addition is yet not fully understood. The work was supported from European Regional Development Fund; OP RDE; Project: "Chemical biology for drugging undruggable targets (ChemBioDrug)" (No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000729).

## P2: Fatty Acid Esters of Hydroxy Fatty Acids in Vernix Caseosa

Aneta Kalužíková, Vladimír Vrkoslav, Josef Cvačka

*ÚOCHB AV ČR, Univerzita Karlova*

The aim of this study was to develop and optimize an analytical method for structural characterization of a new group of lipids in vernix caseosa. Vernix caseosa caseosa is a white, creamy, naturally occurring biofilm that coats the skin of a human fetus from the last trimester of pregnancy. It is a very complex matrix, unique for humans, that consists of water (80%), proteins (10%) and lipids (10%). Fatty acid esters of hydroxy fatty acids (OAHFAs) were identified for the first time in vernix caseosa using liquid chromatography coupled with mass spectrometry. OAHFAs were isolated from the total lipid extract in two steps by adsorption chromatography on silica gel coated plates. Chromatographic separation of OAHFAs was performed on a non-aqueous reversed-phase HPLC with two Nova-Pak C18 columns connected in series (a total length of 45 cm) and using methanol:2-propanol (5mmolar ammonium acetate) isocratic conditions for elution. The analytes were detected as deprotonated molecules by Orbitrap mass spectrometer equipped with electro-spray ionization source. Their structures were elucidated using tandem mass spectrometry with MS and MS2 steps in data-dependent mode.. The most abundant OAHFAs contained saturated  $\omega$ -hydroxy fatty acid and doubly unsaturated fatty acids.



### **P3: The Effects of Omega-O-Acylceramides on Microstructure and Permeability of Model Skin Lipid Membranes**

Lukáš Opálka<sup>1</sup>, Andrej Kováčik<sup>1</sup>, Jaroslav Maixner<sup>2</sup>, Kateřina Vávrová<sup>1</sup>

*1 Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové 500 05, Czech Republic, 2 University of Chemistry and Technology Prague, Prague 166 28, Czech Republic*

Omega-O-acylceramides (acylCer) are a subclass of ceramides (Cer) with an ultralong N-acyl chain (most usually 30 or 32 carbons), esterified in  $\omega$ -position with linoleic acid. AcylCer are crucial components of mammalian skin permeability barrier and they are responsible for the formation of so-called long periodicity lamellar phase (LPP, 12-13 nm), which is essential for preventing water loss from the body. Decreased levels of acylCer in stratum corneum and disruptions in LPP accompany several skin diseases, such as atopic dermatitis, lamellar ichthyosis or psoriasis. In this work we studied how the concentration and structure of acylCer influence the organization and permeability barrier properties of model lipid membranes. For this purpose, two models with different complexity were constructed. For the simple model membranes (composed of acylCer EOS, Cer NS, lignoceric acid, cholesterol and cholesteryl sulfate), the LPP formed at 10% of acylCer EOS (of the total Cer) and the short periodicity phase disappeared at 30% of acylCer EOS. Surprisingly, membranes with the observed LPP had higher permeabilities compared to control membrane (without acylCer). In the complex models (composed of acylCer EOS, EOP, EODs or their mixture, six-component mixture of Cer, free fatty acid mixture, cholesterol and cholesteryl sulfate), acylCer decreased the membrane permeability to model permeants (theophylline and indomethacin) in most membranes, with the exception of membranes with acylCer EOP, which disrupted the membrane in higher concentrations. The XRPD showed the best formation of LPP in the most complex model with the acylCer mixture, the individual acylCer form the LPP only at higher concentrations. The relationships between acylCer structure, LPP formation and permeability barrier function seem to be more complicated. The lipid heterogeneity is essential, because only the most complex model with nine Cer subclasses mimicked both the organization and permeability of stratum corneum lipid membranes.

## **P4: Determination of Gangliosides and Other Polar Lipids Between Kidney Tumor and Surrounding Normal Tissues Using HILIC/ESI-MS**

Roman Hájek,<sup>1</sup> Miroslav Lísa,<sup>1</sup> Maria Khalikova,<sup>1</sup> Robert Jirásko,<sup>1</sup> Eva Cífková,<sup>1</sup> Vladimír Študent,<sup>2</sup> David Vrána,<sup>3</sup> Marcel Matzenauer,<sup>3</sup> Lukáš Opálka,<sup>4</sup> Kateřina Vávrová,<sup>4</sup> Bohuslav Melichar,<sup>3</sup> Michal Holčapek<sup>1</sup>,

*1 University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Department of Analytical Chemistry, Studentská 573, 532 10 Pardubice, Czech Republic 2 Department of Urology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, I.P. Pavlova 6, 775 20, Olomouc, Czech Republic 3 Palacký University, Medical School and Teaching Hospital, Department*

The hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to negative-ion electrospray ionization mass spectrometry (HILIC/ESI-MS) has been validated for quantitative analysis of gangliosides and other polar lipid classes in human kidney tissues. The method was applied for determination of 20 tumor kidney tissues (clear cell renal cell carcinoma, ccRCC) and 20 surrounding normal tissues. The HILIC/ESI-MS method in negative ion mode allowed us to identify and quantify 115 lipid species from 7 classes (SulfoHexCer, SulfoHex2Cer, GM3, PS, PI, LPI, and PG) and subsequent multivariate data analysis. Unsupervised PCA and supervised OPLS-DA have been used for the group differentiation, while S-plot allows the identification of most up-regulated (PI 40:5, PI 40:4, GM3 34:1, and GM3 42:2) and down-regulated (PI 32:0, PI 34:0, PS 36:4, and LPI 16:0) lipids, which are primarily responsible for the group differentiation. The present work was supported by project No. 18-12204S Czech Science Foundation.

## **P5: Steroidal inhibitors of N-methyl-D-aspartate receptors with C-3 amide structural motif: Evaluation of their inhibitory effect, cytotoxicity and plasma stability**

Santosh Kumar Adla<sup>1</sup>, Barbora Slavikova<sup>1</sup>, Hana Chodounska <sup>1</sup>, Vojtech Vyklicky<sup>2</sup>, Marek Ladislav<sup>2</sup>, Pavla Hubalkova<sup>2</sup>, Barbora Krausova<sup>2</sup>, Michaela Nekardova<sup>3</sup>, Marketa Smidkova<sup>1</sup>, Lenka Monincova<sup>1</sup>, Radko Soucek<sup>1</sup>, Pavel Majer<sup>1</sup>, Ladislav Vyklicky<sup>2</sup> Eva Kudova<sup>1</sup>

*1 . Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czech Academy of Sciences, Flemingovo namesti 2, 11610 Prague;*

*2. Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Videnska 1083, 14220 Prague ; 3. Insitute of Biotechnology, Czech Academy of Sciences, Prumyslova 595, 25250*

Herein, we report the synthesis, structure-activity relationship study, and biological evaluation of neurosteroid inhibitors of N-methyl-D-aspartate receptors that employ an amide structural motif, relative to pregnanolone glutamate (PAG) – a compound with neuroprotective properties. Our results demonstrate that all compounds were found to be more potent NMDA inhibitors (IC<sub>50</sub> values varying from 1.4 to 21.7 μM) than PAG (IC<sub>50</sub> = 51.7 μM). Selected compound 6 was evaluated for its NMDAR subtype selectivity and its ability to inhibit AMPAR/GABAR responses. Compound 6 inhibits the NMDA receptors (8.3 ± 2.1 μM) more strongly than it does the GABA and AMPA receptors (17.0 ± 0.2 μM and 276.4 ± 178.7 μM, respectively). Next, compounds 3, 5-7, 9, and 10 were not associated with mitotoxicity, hepatotoxicity nor ROS induction. Lastly, we were able to show that all compounds 1-11 has improved rat and human plasma stability over PAG.

## **P6: Sledování hladiny trans mastných kyselin v mateřském mléce.**

Martin Jaček<sup>1</sup>, Milena Černá<sup>1,2</sup>, Pavel Dlouhý<sup>1</sup>, Petr Tůma<sup>1</sup>

*1Ústav hygieny, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Ruská 87, 100 00 Praha 10, Česká republika, 2Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10, Česká republika*

Negativní vliv trans mastných kyselin (TFA) je postupně odkrýváán a sledován od roku 1993 kdy je první studie spojila s rozvojem kardiovaskulárních onemocnění[1]. Dnes je dobře znám jejich vliv na zvýšení hladiny LDL-cholesterolu a snížení hladiny HDL cholesterolu. Dále jsou spojovány s produkcí prozánětlivých cytokinů vznikem endoteliální disfunkce, zhoršení inzulinové rezistence [2] a vlivem na imunitní systém[3]. Příjem TFA by tedy měl být co nejnižší jak uvádí Evropská agentura pro bezpečnost potravin EFSA, případně by TFA neměli tvořit více jak 1% denního energetického příjmu dle doporučení WHO. Cílem naší práce bylo stanovit hladinu TFA v mateřském mléce získaném od 50ti pražských matek.

Vzorek byl připraven přímou esterifikací či transesterifikací 100 ml mateřského mléka společně s interním standardem (C13:0) a to varem s esterifikační směsí obsahující metanol, toluen a acetylchlorid. Na plynový chromatograf s FID detektorem byl nastříknut 1 ml toluenu obsahující vzniklé methylestery mastných kyselin. Analýza probíhala na dvou spojených kolonách a to SLB-IL111 (100 m × 0,25 mm × 0,2 mm, Supelco, Bellefonte, PA, USA) a koloně SP-2560 (100 m × 0,25 mm × 0,2 mm, Supelco, Bellefonte, PA, USA). Mobilní fází byl vodík o průtoku 1,7 ml/min.

Zjištěný průměrný obsah TFA v 50ti vzorcích mateřského mléka byl  $0,9 \pm 0,27$  hmot. % ze sumy všech mastných kyselin. Při srovnání s podobným průzkumem z roku 2007 vychází tato hodnota 3-4x nižší[4]. Spojení dvou stometrových kolon umožnilo provést detailnější analýzu trans C18:1 izomerů tvořících více než polovinu všech TFA. Největší část ze sumy TFA připadá kyselině trans-vakcenové 27,3 %, kyselině trans-10-oktadecenové 16,3 % a kyselině elaidové 12,6 %.

Tato práce vznikla s podporou projektu PROGRES Q36 Univerzity Karlovy v Praze a projektu Grantové agentury České republiky GA18-04902S.

[1] Willett W.C., Stampfer M.J., Manson J.E., Colditz G.A., Speizer F.E., Rosner B.A. Lancet 341, (1993), 581–585.

[2] Mozaffarian D., Aro A., Willett W.C., Eur J Clin Nutr. (2009), 63 Suppl 2, 5-21.

## **P7: PROBING THE ROLE OF CERAMIDE POLAR HEAD IN MODEL SKIN LIPID MEMBRANES: PERMEABILITY AND BIOPHYSICS**

Andrej Kováčik, Ludmila Pavlíková, Petra Pullmannová, Jaroslav Maixner, Kateřina Vávrová

*Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové*

Ceramides (Cer), cholestereol (Chol), free fatty acids and cholesteryl sulfate (ChoS), i.e. the main barrier lipids form lamellar structures in the uppermost layer of the skin, the stratum corneum (SC). In this study, we focused on the structure of the ceramide polar head. We aimed to investigate the behavior of non-physiological sphingosine Cer analogues (CerNS) with 24 carbons acyl (from lignoceric acid; LIG): 1-deoxy-CerNS, 3-deoxy-CerNS and N-Me-CerNS in model lipid membranes to elucidate the effect of hydroxyls in C1 or C3 positions and N-linked methyl group. We synthesized non-natural ceramide CerNS analogues and these analogues were studied in model membranes. Model lipid membranes were prepared as molar mixtures of CerNS (or 1-deoxy-CerNS or 3-deoxy-CerNS or N-Me-CerNS), LIG and Chol (1:1:1: molar ratio) with a small addition of ChoS (5 wt%). The electric impedance, the water loss through the membrane and the flux of model drugs (theophylline and indomethacin) of the model membranes were investigated to define their barrier characteristics. Moreover, using X-ray powder diffraction and infrared spectroscopy (ATR-FTIR) we studied the model membrane biophysics, such as phase behavior, lamellar and lateral packing and lipid miscibility. The change in ceramide polar head, such as the absence the hydroxyl function in position 1 or 3 or the methylation of the nitrogen leads to a distortion of lipid multilayers in the SC model membranes. We would like to acknowledge the Czech Science Foundation (16-25687J) and Charles University (SVV 260401).

## **P8: In vitro model of atopic dermatitis for testing barrier repairing agents**

Barbora Amélie Čuříková, Jarmila Zbytovská

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze*

Atopic dermatitis (AD) is an inflammatory disease with characteristically reduced skin barrier properties. This phenomenon is caused by a lower content of lipids in the uppermost skin layer – stratum corneum (SC). Opposed to a current treatment of AD with corticoids, restoring skin barrier with native skin lipids appears to be a promising therapy with minimum side effects. For testing the effectivity of these lipid formulation, a suitable in vitro model of the skin with disrupted barrier is needed. For the similarity with human tissue, our model was based on a skin from pig ears. Three different ways of skin barrier disruption were tested: i) tape stripping (based on removing SC layers with an adhesive tape), ii) lipid extraction with organic solvents and iii) barrier disruption by sodium lauryl sulfate (SLS). The level of barrier disruption was investigated by ATR-FTIR spectroscopy and permeation studies and parameters of each method (e.g. number of strips, length of exposure to the disrupting media and its concentration) were modified to reach significant changes between non-disrupted skin and our model. The developed in vitro model was used for preliminary testing of formulations with SC lipid mixtures as a barrier recovery agent. We observed changes in permeation characteristics through our in vitro model treated with the lipid mixtures compared to the untreated damaged skin.

## **P9: Vývoj lipozomálních nosičů pro obnovu kožní bariéry**

Bc. Aneta Vovesná, Ing. Barbora Amélie Čuříková, Doc. Mgr. Jarmila Zbytovská, Dr.rer.nat.

*VŠCHT Praha*

Atopická dermatitida a lupénka jsou kožní onemocněním zapříčiněné sníženou hladinou lipidů v mezibuněčné homotě strata cornea. Vhodnou terapií je podání kožních lipidů – ceramidů, topickou cestou. Problém této léčby však představuje nízká propustnost kožní bariéry pro řadu látek, mezi které se řadí právě i ceramidy. Tato práce je zaměřená na formulaci aktivních látek ceramidu 3 a ceramidu 6 do lipozomů a sledování účinnosti této formulace na obnovu poškozené kožní bariéry. Pomocí vysokotlaké homogenizace byly připraveny lipozomy s různými poměry Cer 3, Cer 6 a phospholiponu ekvimolárně zastoupených ku cholesterolu a kyselině stearové. U těchto formulací byla sledována velikost částic, polydisperzita směsi a časová stabilita. Efekt lipozomální formulace byl testován v soustavě Franzových cel na poškozené prasečí kůži. Vzorky byly podrobeny účinku lipozomů, suspenze lipidů a vodné fáze lipozomů a následně byly porovnány intenzity toku léčiva indomethacinu přes takto obnovené kožní bariéry. U lipozomů byla pozorována vyšší účinnost obnovy oproti suspenzi lipidů a samotné vodné fázi.

## **P10: Vliv užívání kotvičníku zemního na hladinu endogenních steroidů**

Pavla Průchová, Edita Kofroňová, Martin Kuchař, Jan Heller

*VŠCHT v Praze, Praha Dejvice, UK FTVS, Praha Veleslavín*

Přírodních preparáty jsou v poslední době stále oblíbenější. K nejoblíbenějším mezi spotřebiteli patří ty s obsahem rostliny *Tribulus terrestris*, česky kotvičník zemní. Tato rostlina je používána jako takzvané „zelené anabolikum“ mezi sportovci, ale existují i studie kde je používána pro léčbu erektylní dysfunkce. *Tribulus terrestris* obsahuje steroidní saponiny, které mají ovlivňovat hladinu endogenních steroidů v lidském séru, zejména testosteronu. Pro přesnou kvantifikaci steroidních látek byla použita LC-MS/MS metoda. Dále bylo nutné optimalizovat zpracování vzorků, jako nejvhodnější byla vybrána metoda srážení proteinů podchlazeným acetonitrilem. V naší dvojitě zaslepené studii bylo 28 dobrovolníků náhodně rozděleno do dvou skupin, kontrolní a experimentální. Kontrolní skupina užívala placebo a experimentální 48 mg účinné látky na den. Hladiny endogenních steroidů byly stanoveny před začátkem užívání přípravků a následně po čtyřech a osmi týdnech suplementace. S naměřenými daty byla provedena statistická analýza pomocí dvoufaktorové analýzy rozptylu s opakováním. I když u některých dobrovolníků došlo ke zvýšení hladiny testosteronu a nárůstu výkonnosti, výsledky studie nepotvrzují statisticky významné změny hladin endogenních steroidů po užívání přípravku s obsahem rostliny *Tribulus terrestris*.



## **P11: GCxGC/MS as a tool for study of lipogenesis in white adipose tissue**

Petr Žáček<sup>1</sup>, Marina Oseeva<sup>2</sup>, Ondřej Kuda<sup>2</sup>

*1 BioCeV - Faculty of Science, Charles University, Prague, CZ; 2 Institute of Physiology CAS, Prague, CZ*

A comprehensive two-dimensional gas chromatography with mass detection (GCxGC/TOFMS) was introduced as a novel analytical tool less than twenty years ago. Since then the technique has become well established due to its sensitivity, peak resolution, enhanced peak capacity and reproducibility<sup>1</sup>. Here we present methods that involve GCxGC/TOFMS in a biosynthesis study of fatty acids in white adipose tissue. The research strategy was based on feeding rats or mice with deuterated water. After a certain time of incubation the animals were killed and the white adipose tissue was dissected and introduced to a transesterification reaction. Products of the transesterification – fatty acids methyl esters (FAME) and glycerol (silylated prior analysis) - were introduced to GCxGC/TOFMS. We used the combination of the resolving power of the GCxGC and mass detection for determination of the fatty acids profile in the tissue and deuterium incorporation in both metabolites. Literature: Almstetter MF. et al.; Anal. Bioanal. Chem. 402, 1993 (2012). Acknowledgment: This study is supported by the project GACR 18-04483S (Petra Janovska) and BIOCEV – Biotechnology and Biomedicine Centre of the Academy of Sciences and Charles University (CZ.1.05/1.1.00/02.0109) from the European Regional Development Fund.

## **P12: Mechanism of liposome formation by microfluidic mixing: the concept based on lipid bilayer fragments vesiculation**

Kotouček Jan, Hubatka František, Mašek Josef, Mašková Eliška, Bartheldyová Eliška, Kulich Pavel, Raska Milan, Turánek Jaroslav

*Veterinary Research Institute, Hudcova 296/70 621 00 Brno Czech Republic*

Liposomes are known for their biocompatible and encapsulation properties and are the most successful drug-carrier system approved by FDA. Recently new preparation technique based on nanofluidic mixing has been demonstrated using a microfluidic platform with characteristic mixing profile. The instrument NanoAssemblr™ (Precision Nanosystems, Canada) was used to prepare nanoliposomes containing metalochelating lipid 18:0 PE DTPA (Gd) to improve contrast in cryoTEM and resolve individual parts of membrane layers by cryoTEM. The size distribution was analyzed by DLS (Zetasizer Nano ZSP, Malvern Instruments, UK) and NTA (NanoSight NS500, Malvern Instruments, UK), liposomes were  $(114 \pm 0.3)$  nm in diameter with low polydispersity  $0.04 \pm 0.02$ . By NMR (Bruker-BioSpec 94/30 USR, Bruker, GE) measurement, the use of our Gd-liposomes as theranostic has been proven. Relaxivity was much higher, around  $40 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  compared to common contrast agent for MRI. Using ICP-OES (ULTIMA 2, Horiba Jobin Yvon, FR) analytical measurement, the precise concentration of gadolinium was determined to  $(9.30 \pm 1.49) \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . This concentration is suitable for potential in vivo experiments. Liposomes can be used as targeted diagnostic agents and will contain encapsulated APIs for therapeutic use. An important observation was the detection of lipid membrane fragments in liposomes. This work also experimentally describes the concept of liposome formulation from a lipid bilayer fragments. This new concept was proven by modern analytical methods including cryo-transmission electron microscopy technique, which allows us to observe single liposomes containing fragment and also double liposomes prior to conversion.

### **Acknowledgement:**

This work was supported by the project "FIT" (Pharmacology, Immunotherapy, nanoToxicology) EF15\_003/0000495 funded by the European Regional Development Fund (J.Turanek). Ministry of Health CZ AZV-ČR 15-32198A (MR, JT); and CZ AZV-ČR 16-30299A (JT); the project MZE0002716202 and RO0518 of the Czech Ministry of Agriculture.

### **P13: Protective role of nitro-oleic acid in development of vascular dysfunction**

Adolf Koudelka<sup>1</sup>, Jana Kudova<sup>1</sup>, Martin Koreny<sup>1</sup>, Tomas Perecko<sup>1</sup>, Veronika Cechova<sup>1</sup>, Anna Klinke<sup>2</sup>, Volker Rudolph<sup>2</sup>, Bruce A. Freeman<sup>3</sup>, Michaela Pekarova<sup>1</sup>

*1 Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Kralovopolska 135, 612 65 Brno, Czech Republic; 2 Heart Centre, University Hospital of Cologne, Kerpener Str. 62, 509 37 Cologne, Germany; 3 Department of Pharmacology and Chemical Biology, University of Pittsburgh, 200 Lothrop Street, 152 61 Pittsburgh, PA, USA*

It is becoming increasingly evidence that nitration products of unsaturated fatty acids represent an important class of endogenous biological mediators, generated as an adaptive response of organism to oxidative and nitrative stress. The purpose of our study was to define the role of nitro-oleic acid (NO<sub>2</sub>-OA) in prevention and treatment of vascular dysfunction in different models (atrial fibrosis and pulmonary hypertension). The effect of NO<sub>2</sub>-OA was tested in different cell types (including macrophages, neutrophils, fibroblasts, endothelial, and smooth muscle cells) both in vivo and in vitro. Our results showed that NO<sub>2</sub>-OA significantly improves the heart functions and overall outcome of animals with atrial fibrosis and pulmonary hypertension. These effects were associated with reduced polarization of macrophages toward pro-inflammatory and immuno-regulatory subsets, decreased activation of different signaling pathways as well as production of pro-inflammatory and pro-fibrotic mediators. NO<sub>2</sub>-OA prevents pathological activation of endothelial cells characterized by reduced production of pro-inflammatory cytokines and chemokines, expression of adhesive molecules as well as their transformation to the pro-fibrotic phenotype. In aggregate, our study provides unique results showing the protective effects of NO<sub>2</sub>-OA in progression of vascular inflammation.

## **P14: Critical assessment of plasma lipidome of patients on total parenteral nutrition**

Vít Kosek, Monika Cahová, Tomáš Ruml, Jana Hajšlová

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze*

The total parenteral nutrition (TPN) represents an irreplaceable and life-saving treatment for patients with short bowel. However, TPN is often associated with serious complications, hepatic injury being one of the most devastating of them, significantly increasing patients' morbidity / mortality. Also there is limited information if the metabolic transformation of nutrients acquired directly from plasma differs from that in normal state (healthy patients). For the purpose of discovering these differences in plasma lipidomes, non-targeted approach based on reverse phase ultra-high performance liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry (RP-UHPLC-HRMS) was used. The sample set comprised from 106 plasma samples of patients on full parenteral nutrition and 25 control plasma samples from healthy patients. Lipid components of nutrition mixtures were analyzed the same way. The obtained data were evaluated by both unsupervised and supervised multivariate methods and the signals common for both infusion and plasma samples were excluded in order to negate the statistical impact of compounds obtained directly from infusions. The differences between patients and control groups were observed and several lipids could be obtained as "marker" compounds. As a means of oxidative stress monitoring, several oxidized lipid groups were profiled. It was found that profiles of oxidized lipids differed significantly and are generally more abundant in TPN patients group. This work was supported by the "Operational Programme Prague – Competitiveness" (CZ.2.16/3.1.00/21537 and CZ.2.16/3.1.00/24503), the "National Programme of Sustainability I" - NPU I (LO1601 - No.: MSMT-43760/2015) and received financial support from specific university research (MSMT No 21-SVV/2018). This work was also supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant NV15-28745A. All rights reserved.

## **P15: Biofyzikální charakterizace lipidových membrán stratum corneum**

Jarmila Zbytovská

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 16628 Praha 6

Ceramides are significant constituents of the stratum corneum (SC), the uppermost skin layer, which is responsible for skin barrier properties. SC membrane models based on one type of ceramide have been widely described. However, to better mimic natural skin composition, we prepared and characterized model membranes that contained mixtures of ceramides (CerNP, CerAP, CerNS) and other SC components. Lipid arrangement, phase and thermotropic behavior were studied by small angle X-ray scattering and FTIR spectroscopy. Moreover, their permeability for model drugs was tested. The membranes with CerNP and CerNS showed significant phase separation, even after their phase transition. On the other hand, the presence of CerAP increased lipid miscibility in the ceramide mixtures. The membranes based on ceramide mixtures showed different behavior compared with the membranes with only one type of ceramide. The membrane containing all three ceramides created a highly mixed system with narrow one-step phase transition, which occurred at the lowest temperatures from all studied samples. Our results suggest that this membrane is the most suitable model for simulating the SC.