

Stanovení SPF a UVA-PF in vitro

Bc. Iveta Krmášková

Diplomová práce
2010

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Iveta KRMÁŠKOVÁ**
Osobní číslo: **T080353**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a ekonomika výroby tuků, detergentů
a kosmetiky**

Téma práce: **Stanovení SPF a UVA-PF in vitro**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Anatomie a fyziologie kůže.
2. Účinky ultrafialového záření na kůži.
3. Fotoprotekce.

II. Praktická část

1. Popis metodiky stanovení UVA-PF metodou in vitro.
2. Popis testovaných vzorků.
3. Postup při stanovení.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] HORKÝ, J., ČECH, S. Mikroskopická anatomie, Brno 2005.

[2] DITRICHOVÁ, D. a kol. Repetitorium dermatovenerologie, EPAVA, Olomouc 2002.

[3] MALINA, L. Fotodermatózy, MAXDORF, Praha 1999.

[4] ETTLER, K. Fotoprotekce kůže, TRITON, Praha 2004.

Vedoucí diplomové práce: **RNDr. Kristina Kejlová**
SZÚ Praha

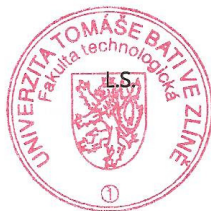
Datum zadání diplomové práce: **22. února 2010**

Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2010**

Ve Zlíně dne 22. února 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Diplomová práce byla zaměřena na stanovení ochranného faktoru před slunečním zářením (SPF) a ochranného faktoru proti UVA složce záření (UVA-PF) metodou *in vitro* podle metodiky uvedené v návodech vydaných sdružením COLIPA. Cílem DP bylo ověřit návrh normy ISO/WD 24443 pro stanovení UVA ochrany metodou *in vitro* a srovnat s hodnotami naměřenými metodami *in vivo*. Výběr vzorků byl volen se záměrem otestovat formulace, které byly z aplikačního hlediska problematické.

Klíčová slova: krém na opalování, SPF, UVA-PF, *in vitro*, UV filtry

ABSTRACT

This thesis was focused on determination of Sun Protection Factor (SPF) and UVA Protection Factor (UVA-PF) using an *in vitro* method according to COLIPA Guidelines. The aim of the thesis was to verify the procedure described in the Draft ISO Standard (ISO/WD 24443 on Determination of Sunscreen UVA Photoprotection *In vitro*) and to compare results obtained *in vitro* with the outcome of SPF and UVA-PF determination *in vivo*. The samples were chosen with the goal to test formulations with problematical mode of application.

Keywords: Sunscreen, SPF, UVA-PF, *In vitro*, UV filters

Poděkování, motto

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé diplomové práce RNDr. Kristině Kejlové, dále také RNDr. Haně Bendové a Ing. Marii Rádlové ze SZÚ v Praze za velmi cenné připomínky, ochotu, pomoc a čas, který mi věnovaly při zpracování mé diplomové práce.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a známým za jejich podporu.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/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 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/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);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/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.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ 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, § 35 odst. 3:

(1) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ 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, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k vyšší výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 ANATOMIE KŮŽE	13
1.1 EPIDERMIS (POKOŽKA)	14
1.1.1 Základní vrstva (<i>stratum basale, stratum cylindricum</i>)	14
1.1.2 Ostnitá vrstva (<i>stratum spinosum</i>)	14
1.1.3 Zrnitá vrstva (<i>stratum granulosum</i>)	15
1.1.4 Světlá vrstva (<i>stratum lucidum</i>)	15
1.1.5 Rohová vrstva (<i>stratum corneum</i>).....	15
1.1.6 Melanocyty	16
1.2 DERMIS (ŠKÁRA, CORIUM)	16
1.2.1 Papilární vrstva (<i>Stratum papillare</i>).....	16
1.2.2 Síťovitá vrstva (<i>Stratum reticulare</i>).....	17
1.3 PODKOŽNÍ VAZIVO (TELA SUBCUTANEA, HYPODERMIS)	17
2 ÚČINKY ULTRAFIALOVÉHO ZÁŘENÍ NA KŮŽI.....	18
2.1 ULTRAFIALOVÉ ZÁŘENÍ	18
2.2 PRŮNIK UV ZÁŘENÍ DO KŮŽE	19
2.3 ČASNÝ TYP ÚČINKŮ	21
2.3.1 Radiačně podmíněný zánět.....	21
2.3.2 Opálení	21
2.3.2.1 Časné pigmentační ztmavnutí.....	21
2.3.2.2 Pozdní pigmentace (PPD - persistent pigment darkening)	22
2.3.3 Imunologické změny	22
2.3.4 Hyperplazie kůže	22
2.3.5 Syntéza vitamínu D	22
2.4 POZDNÍ TYP ÚČINKŮ	23
2.4.1 Stárnutí kůže (Photoageing)	23
2.4.2 Fotokarcinogeneze	24
2.5 OBECNÉ SHRNUTÍ ÚČINKŮ	24
3 FOTOPROTEKCE	25
3.1 PRINCIPY PŘIROZENÉ FOTOPROTEKCE.....	25
3.2 FOTOPROTEKTIVNÍ PROSTŘEDKY K ZEVNÍMU POUŽITÍ.....	27
3.2.1 Sunscreeny chemické povahy.....	28
3.2.1.1 UVB sunscreeny	29
3.2.1.2 UVA-sunscreeny	30
3.2.2 Fyzikální sunscreeny	30
3.2.2.1 Oxid titaničitý	31
3.2.3 Kombinovaná fotoprotekce	31
4 STANOVENÍ UVA-PF METODOU IN VITRO.....	33

4.1	VYMEZENÍ POJMŮ.....	34
4.1.1	In vitro UVA ochranný faktor před expozicí UV zářením (UVA-PF ₀)	34
4.1.2	In vitro ochranný sluneční faktor (SPF _{in vitro})	34
4.1.3	Spektrum působení, E(λ) pro erytém nebo P(λ) pro PPD	34
4.1.4	Průměrná monochromatická absorpce A λ	34
4.1.5	Intenzita záření	34
4.1.6	Spektrální záření I(λ) pro SPF nebo PPD testování	34
4.1.7	Hodnota kritické vlnové délky	35
II	PRAKTICKÁ ČÁST	36
5	POPIS TESTOVANÝCH VZORKŮ	37
6	PŘÍSTROJE, MATERIÁLY A POSTUP MĚŘENÍ.....	39
6.1	SPEKTROFOTOMETR.....	39
6.2	SUBSTRÁT	39
6.3	SLEPÝ POKUS.....	40
6.4	PŘÍPRAVA VZORKU.....	40
6.5	VLASTNÍ MĚŘENÍ I.....	41
6.6	VÝBĚR HODNOT	41
6.7	SPREADSHEET I	41
6.8	EXPOZICE UV ZÁŘENÍM	42
6.9	VLASTNÍ MĚŘENÍ II.....	42
6.10	SPREADSHEET II	43
6.11	VYHODNOCENÍ.....	43
6.12	VÝPOČTY	43
6.12.1	Výpočet SPF _{in vitro}	43
6.12.2	Výpočet upraveného in vitro SPF _{in vitro} a určení korekčního koeficientu „Co“.....	43
6.12.3	Výpočet UVA-PF ₀	44
6.12.4	Výpočet UVA dávky „D“ pro ozáření vzorku	44
6.12.5	Výpočet UVA-PF po UV ozáření vzorku	45
6.12.6	Výpočet poměru SPF/UVA-PF	45
6.12.7	Výpočet hodnoty kritické vlnové délky.....	45
7	NAMĚŘENÉ HODNOTY	47
8	DISKUZE	51
	ZÁVĚR	57
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	59
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	63
	SEZNAM OBRÁZKŮ	65
	SEZNAM TABULEK.....	67
	SEZNAM PŘÍLOH.....	68

ÚVOD

Slunce vzniklo asi před 4,6 miliardami let a bude svítit ještě dalších 7 miliard let. [7] Ve starověku bylo v mnoha kulturách uctíváno jako božstvo. V antickém Řecku byl bohem Slunce Helios, který cestoval každý den po obloze ve svém zlatém voze. Ve starověkém Římě se nazýval Sol a ve starověkém Egyptě pak Ré, Ra či Amon. V astrologii je Slunce symbolem vitality a zdraví. Většina kultur považovala Slunce za symbol života a znovuzrození, což bylo spojeno s jeho pravidelným objevováním se na obloze každé ráno.

Objevením slunečních skvrn byla značně pobouřena tehdejší katolická obec, jelikož se do té doby věřilo, že Slunce je tvořeno z „dokonale čistého éteru“ a tedy je nemožné, aby se na jeho povrchu nacházely tmavší plochy.

Nutnost přizpůsobit se změnám podnebí i stylu života vedla lidstvo k úvaze o příznivosti vlivu Slunce na organismus. Při sledování jeho vlivu zjišťovali pozitivní působení na organismy, ale přitom se nedalo přehlédnout i rizika, která působení slunečních paprsků měla. S přibývajícím roky se začaly objevovat důsledky nadměrného slunění, což vedlo k výzkumu jeho působení a z něho vyplývajících varování před nadměrným opalováním. Na tyto výsledky výzkumu navázal i kosmetický průmysl, který ve spolupráci s dermatology začal vyvíjet ochrannou kosmetiku [10]. Aktivní ingredience v prostředcích na ochranu proti slunečnímu záření pohlcují nebo odráží ultrafialové (UV) záření dopadající na kůži a pomáhají kůži chránit před spálením. Prostředky na ochranu proti slunečnímu záření můžeme nalézt ve formě krému, spreje, gelu nebo jiné galenické formě. [11] Hledaly se i další způsoby ochrany v podobě ochranných oděvů apod. [10].

Ochranný faktor před slunečním zářením (SPF) udává, o jaký násobek času je možné po nanesení přípravku na kůži prodloužit pobyt na slunci, bez jejího zčervenání. Výsledný čas bezpečného pobytu jedince na slunci závisí na SPF a konkrétním fototypu, který je u každého člověka individuální. Opětovné nanesení ochranného prostředku neredukuje škodlivé účinky už přijatého slunečního záření. Výrobky, u kterých se laboratorně naměří vysoké faktory (nad 50), se jednotně označují údajem 50+ (dle Doporučení Komise 2006/647/ES) a jsou určené pro citlivé osoby a děti, či pro extrémní prostředí tropů a velehor.

Vedle vhodného SPF je potřeba zohlednit další faktory jako čas slunění, geografickou polohu, či nadmořskou výšku. Po natření ochranného přípravku je důležité nepodléhat pocitu

falešné jistoty a zbytečně se nevystavovat slunečnímu záření hlavně v kritických hodinách (11. – 15. hod.). Také nesmíme zapomínat, že sníh odráží 90 %, voda 50 % a písek 50 % slunečního záření. Rovněž ve stínu jsme částečně slunečnímu záření vystaveni. Dokonce i přes zamračenou oblohu proniká 70–80 % záření. Samozřejmě, že nejlepší ochranou před slunečními paprsky je nevystavovat se jim, resp. jen v takové míře a v takovou denní dobu, aby k poškození kůže došlo jen minimálně. [10]

Ochranný faktor proti UVA složce záření stanovený metodou *in vitro* je označován jako UVA-PF. Metoda měření *in vitro* je založena na měření transmitance UV záření procházející tenkou vrstvou vzorku rozetřeného na zdrsňelém substrátu před a po expozici kontrolovanou dávkou simulovaného slunečního světla z definovaného zdroje UV záření. Vzhledem k mnoha proměnným, které nemohou být kontrolovány typickými spektroskopickými technikami s tenkým filmem, je každá sada transmisních dat matematicky upravena, aby poskytla hodnotu korelující s hodnotou *in vivo* SPF, která byla stanovena *in vivo* testováním metodou "Persistent Pigment Darkening". [44]

Latinský výraz „*in vitro*“ můžeme přeložit do češtiny jako „ve skle“ nebo „ve zkumavce“. Pojem kultivace „*in vitro*“ se používá v medicíně, biologii a v příbuzných oborech pro organismy pěstované v umělých podmínkách ve zkumavkách či jiném laboratorním skle (např. Petriho miskách) – ne však na živé tkáni.

Práce byla zaměřena na stanovení ochranného slunečního faktoru (SPF) a UVA-PF metodou *in vitro* podle metodiky uvedené v návodech vydaných sdružením COLIPA. COLIPA (European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association) je evropské sdružení výrobců kosmetických a toaletních prostředků zabývající se kosmetickými výrobky již od roku 1962. Skládá se z 16 významných mezinárodních společností a z 25 aktivních národních asociací. Její členové pracují na vývoji nových, bezpečných a efektivních kosmetických prostředků. Jejich posláním je splnění spotřebitelské touhy po nových a lepších výrobcích a poskytování užitečných a ucelených informací o kosmetických výrobcích. [14]

I. TEORETICKÁ ČÁST

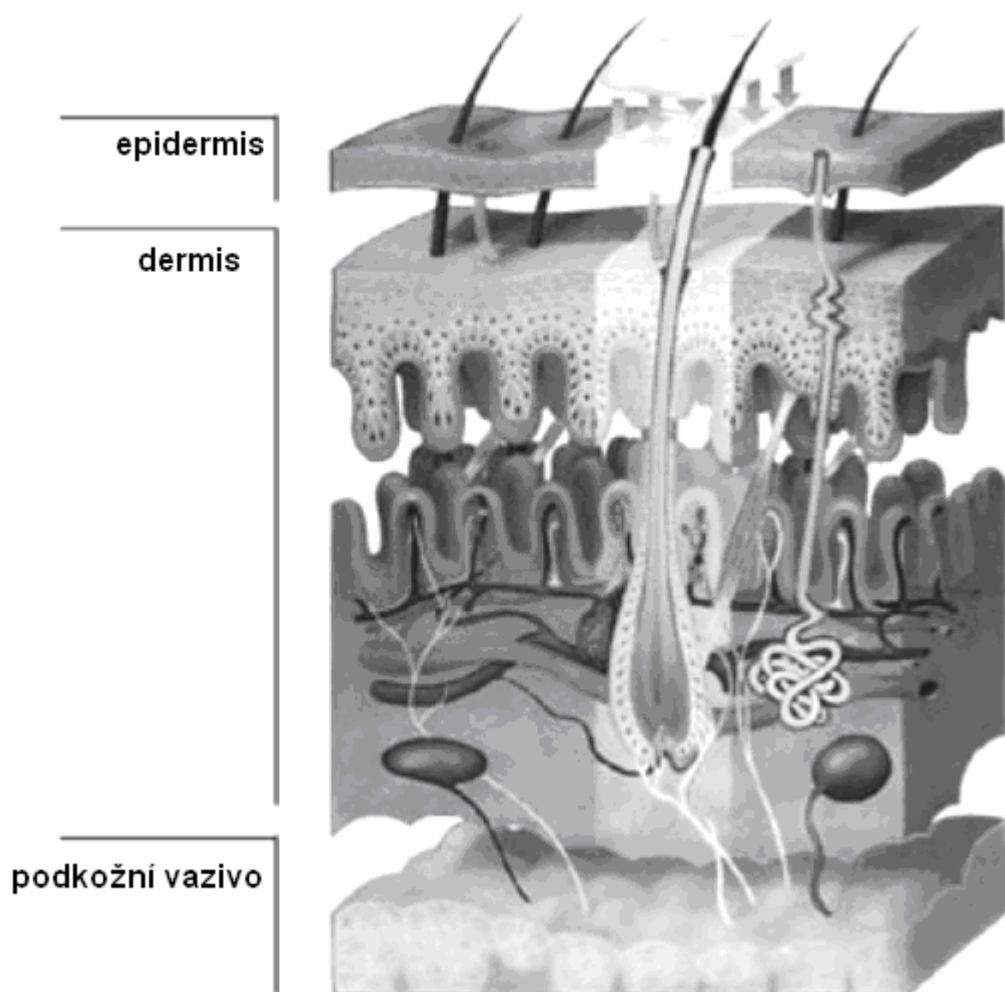
1 ANATOMIE KŮŽE

Kůže (Cutis, Dermis) je největší a nejvšestrannější orgán lidského těla. [1] Má hmotnost 15-20 kg (včetně podkoží) a plochu 1,5-2 m² [2] Kůže je v podstatě 1- 4 mm tlustá vrstva, tvořící ochranný povrch těla. [3] Tloušťka může kolísat v závislosti na věku, pohlaví, výživě a především na anatomické lokalizaci. [2]

Kožní tkáň se skládá ze 3 základních částí znázorněných na Obr. 1:

- **epidermis** (pokožka) - rohovějící vrstevnatý dlaždicový epitel
- **dermis** (corium, škára) – vrstva tuhého vaziva
- **podkožní vazivo** (tela subcutanea, subcutis, hypodermis)

Dále jsou v kůži přítomna kožní adnexa dvojího druhu: žláznová (potní a mazové žlázy) a keratinizovaná (vlasy a nehty). [2], [3]



Obr. 1 Řez kůží [30]

1.1 Epidermis (pokožka)

Epidermis tvoří vnější část kůže. [29] Je tvořena mnohvrstevným dlaždicovým epitelem, jehož buňky, keranocyty, směrem k povrchu postupně ztrácejí jádro, rohovějí a průběžně se odlučují v podobě jemných šupinek. Tento proces vyžívání (diferenciace, keratinizace) trvá v normální kůži asi 4 týdny a jejím výsledkem je vodě odolný protein keratin a tukové látky, které jsou součástí ochranného bariérového komplexu.

Epidermis se skládá z pěti vrstev, které od škóry směrem k povrchu následují v pořadí: stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum a stratum corneum. [2],[3]

1.1.1 Základní vrstva (*stratum basale, stratum cylindricum*)

Stratum basale je tvořeno jednou vrstvou kubických až cylindrických buněk s velkými jádry a jemnými tonofilamenty cytoeratinu. Bunečné elementy jsou propojeny navzájem prostřednictvím desmozomů a fixovány k bazální membráně pomocí semidesmozomů, což jsou specializovaná ztlustění buněčné membrány. Asi 5-10% buněk bazální vrstvy tvoří dendritické melanocyty. Zde syntetizovaný pigment melanin je předáván okolním buňkám a slouží k ochraně před ultrafialovým zářením. [2], [3]

1.1.2 Ostnitá vrstva (*stratum spinosum*)

Stratum spinosum je další součást epidermis. [3] Tvoří několik vrstev polygonálních buněk, které se směrem k povrchu zplošťují. Významnou součástí cytoplazmy těchto buněk je hustá síť keratinových tonofibril a Odlandova tělíska (keratinozomy) s obsahem polysacharidů, sterolů, lipidů a hydrolytických enzymů s důležitou úlohou v procesu keratinizace. V této vrstvě se nalézají i dendritické Langerhansovy buňky, významné pro imunitní děje v kůži. [2] Mohutnost stratum spinosum, tj. počet buněčných vrstev, závisí na typu kůže. Zatímco u ochlupené kůže je ostnitá vrstva poměrně tenká, dosahuje u lysé kůže dvoj- až trojnásobné tloušťky a je tvořena 8 až 12 vrstvami. Jako pravidlo se uvádí, že buněčných vrstev je u lysé kůže vždy tolik, aby zarovnal nerovnosti způsobené průnikem dermálních papil do pokožky. [3]

Stratum spinosum spolu se stratum basale zajišťuje fyziologickou obnovu a doplňování odlupujících se buněk pokožky. Soudí se, že obměna keranocytů trvá 15 až 30 dnů. [3]

1.1.3 Zrnitá vrstva (*stratum granulosum*)

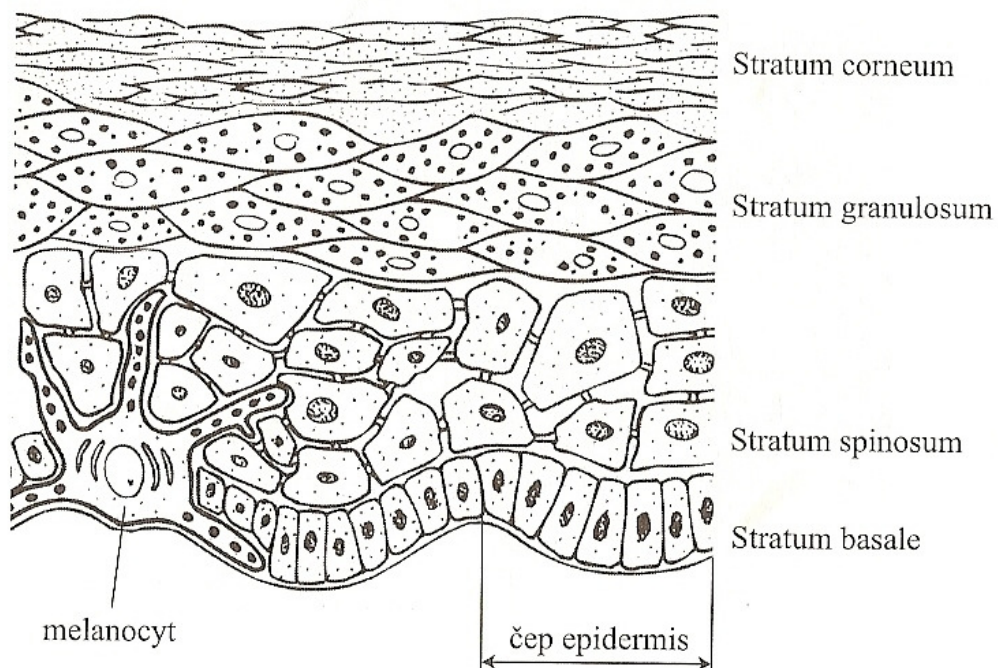
Stratum granulosum je charakterizováno 1-3 řadami oploštělých buněk s centrálně uloženými jádry. Keratinozomy se vyprazdňují do intercelulárního prostoru a jsou zdrojem epidermálních lipidů. Jádra buněk již degenerují. [2]

1.1.4 Světlá vrstva (*stratum lucidum*)

Stratum lucidum je tenká vrstva jasných buněk, je výrazněji vyvinutá jen na dlaních a ploskách. [2] Buňky neobsahují žádné buněčné organely. [3]

1.1.5 Rohová vrstva (*stratum corneum*)

Stratum corneum nemá již buněčný charakter a skládá se z oploštělých a těsně k sobě přiložených zrohovělých šupinek, ekvivalentů to zaniklých buněk. [3] Korneocyty se ve formě rohových lamel trvale odlučují na kožním povrchu, což zajišťuje samočisticí schopnost kůže. [2] Tloušťka rohové vrstvy je proměnlivá a závisí na funkci a oblasti těla. Nefyziologickou deskvamaci rohové vrstvy v podobě souvislých lamel způsobují např. nadměrné slunění (UV záření), popáleniny nebo opařeniny a akutní mechanické namáhání kůže (otlaky). [3]



Obr. 2 Schéma epidermis [2]

1.1.6 Melanocyty

Melanocyty syntetizují černohnědý pigment melanin (polymer eumelanin). Mají drobnější zaoblené tělo, ze kterého vybíhají mezi keratinocyty zárodečné vrstvy dlouhé a větvící se výběžky. Buňky syntetizující melanin se nazývají melanocyty. Melanin je syntetizován v organelách zvaných melanosomy, které vznikají odštěpováním z Golgiho aparátu. Melanosomy s hotovým pigmentem putují z buněčného těla do jeho výběžků a jejich prostřednictvím až do keratinocytů.

V keratinocytech se melaninová zrna shromažďují nad buněčnými jádry ve formě pigmentových čepiček a chrání je před účinky UV záření. U bílé rasy mají pigmentové čepičky pouze keratinocyty stratum basale, zatímco u barevných a silně pigmentovaných ras jsou i nad jádry keratinocytů ve stratum spinosum a zbytky melaninu lze nalézt dokonce i v odlupujících se šupinkách rohové vrstvy.

Opotřebované melanocyty jsou postupně vysouvány ze stratum basale a odlupují se společně s buňkami rohové vrstvy. Jejich počet je udržován množením melanocytů v aktivní fázi melanogeneze.

Ztmavnutí epidermis vyvolané UV zářením (tzv. opálení) je způsobeno několika faktory: přesunem (migrací) melanocytů do povrchnějších vrstev, urychlením syntézy melaninu včetně jeho předávání melanocyty keratinocytům a tmavnutím melaninu, který keratinocyty obsahují již z dřívějšího.

1.2 Dermis (Škára, corium)

Dermis spojuje pokožku s podkožním vazivem. Podle tělní krajiny je silná 1-4 mm. Ve škáře se rozlišují dvě vrstvy: bezprostředně pod epidermis ležící měkké, v papily vybíhající stratum papillare a hlouběji uložené, hutnější, stratum reticulare. [3]

1.2.1 Papilární vrstva (*Stratum papillare*)

Stratum papillare se vyznačuje tím, že proti pokožce vybíhá v četné výběžky – koriové papily. Je tvořeno řídkým kolagenním vazivem, obsahujícím hojná elastická vlákna, četné vazivové buňky, krevní cévy a senzitivní nervová zakončení. Kolagenní vlákna pevně pouťají škáru k pokožce. Tvar a výška i uspořádání koriových papil souvisejí s tloušťkou po-

kožky. Nízké a široké papily se vyskytují v kůži tenkého typu, zatímco vyšší a štíhlejší papily jsou typické pro kůži tlustého typu.

Na dlaňové straně ruky a na plantární straně nohy vybíhá stratum papillare proti epidermis v podobě vazivových hran, které se označují jako koriové lišty. Koriovým lištám na povrchu pokožky odpovídají hmatové lišty, oddělené rýhami. Průběh obou lišt je u každého jedince originální a v průběhu života neměnný. [3]

1.2.2 Síťovitá vrstva (*Stratum reticulare*)

Síťovitá vrstva škáry je vždy silnější než papilární vrstva a skládá se hustého kolagenního vaziva. Celá vrstva je protkána sítí elastických vláken, které jí dodávají pružnost. [3]

1.3 Podkožní vazivo (*Tela subcutanea, hypodermis*)

Podkožní vazivo zajišťuje spojení kůže s podkladem (např. svalovými vlákny). Podle stavu výživy a tělní oblasti může obsahovat tukové lalůčky nebo souvislé polštáře složené z tukových buněk. Slouží jako zásobárna energie, mají tepelně izolační funkci a tlumí mechanické nárazy.

Podkožní vazivo se nepovažuje většinou za součást kůže. [3]

2 ÚČINKY ULTRAFIALOVÉHO ZÁŘENÍ NA KŮŽI

2.1 Ultrafialové záření

Na lidskou kůži dopadá ultrafialové (UV), viditelné (VR, 400-760 nm) a infračervené (IR, 760-3000 nm) záření, jejichž účinky studuje fotodermatologie.

Ve fotodermatologii je nejdůležitější ultrafialové záření, které má vlnové délky 100-400 nm. [4] Ultrafialové záření je elektromagnetické vlnění s vlnovými délkami kratšími než viditelné světlo. [6] Konvencí je rozděleno do 3 pásem – UVA, B, C. [4] Nicméně rozsah jednotlivých vlnových délek se liší v závislosti na zdroji.

V roce 1932 byl stanoven rozsah vlnových délek pro UVA 400–315 nm, UVB 315–280 nm a UVC 280–100 nm. V poslední době se uvádí vlnové délky pro UVA 400-320 nm, UVB 320-290 nm a pro UVC 290-200 nm.

Rozhraní mezi UVB a UVC je 290 nm, přičemž UV záření kratších vlnových délek se na zemi s výjimkou vysokých nadmořských výšek téměř nevyskytuje. Volba hodnoty 320 nm mezi UVB a UVA je částečně rozporuplná. Pokroky v molekulárních výzkumech naznačují, že rozhraní 330-340 nm může být vhodnější. Z tohoto důvodu je UVA v poslední době dále děleno na UVA I (340 - 400 nm) a UVA II (320-340 nm). [21]

Pásmo UVC (200-290 nm) [21] se někdy nazývá germicidní [5]. Krátká vlnová délka (254 nm) je považována za dezinfekční. UV záření v rozsahu 250-260 nm je pro organismy smrtící [22] Používá se k prostorové dezinfekci operačních sálů, laboratoří atd. Je absorbováno ozónovou vrstvou a na zemský povrch nedopadá. [6]

Pásmo UVB (290-320 nm) [21] UVB záření je škodlivá složka slunečního světla, která poškozuje všechny formy života [22]. Je biologicky velmi účinným vyvolavatelem erytému i pigmentace v ozářené kůži a používá se také v dermatologické fototerapii. [5] Po ozáření UVB paprsky dochází ke zčervenání kůže a popřípadě k tvorbě zánětu až puchýřů. Po odeznění těchto projevů kůže zhnědne a toto zhnědnutí má trvalejší povahu. [24]

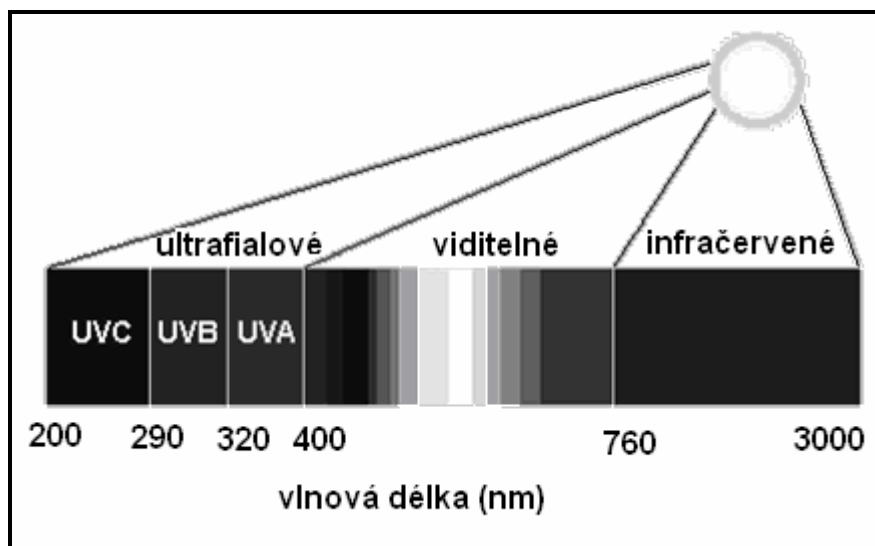
Pásmo UVA (320-400 nm) [21] se používá zejména v soláriích, dermatologické fototerapii. Vyvolává pigmentaci, méně často erytém. Proniká hlouběji do kůže, může tedy ovlivnit více struktury v kůži. [5] Dostatečná dávka UVA vyvolává zhnědnutí kůže, které vzniká nedlouho po ozáření, avšak přetrvává jen krátkou dobu. [24]

Kromě UVC záření ozón absorbuje i velkou část UVB záření, což znamená, že UV záření na Zemi je tvořeno převážně UVA (90 – 99%) a malou částí UVB (1 – 10%). [6]

Viditelné záření (400-760 nm) představuje asi 50% slunečního záření. Mimo některé fotodematózy zatím nejsou popisovány jeho škodlivé účinky na kůži. Používá se k léčbě novorozenecké žloutenky, sezónních afektivních poruch (depresí) v psychiatrii a nově i ve fotodynamické léčbě.

Infračervené záření (760-3000 nm) tvoří 45% energie slunečního záření. Proniká hluboko do kůže a způsobuje její přehřátí.

Sluneční ozáření vyvolává na kůži celou řadu biologických efektů, které jsou jak užitečné, tak škodlivé. [5]



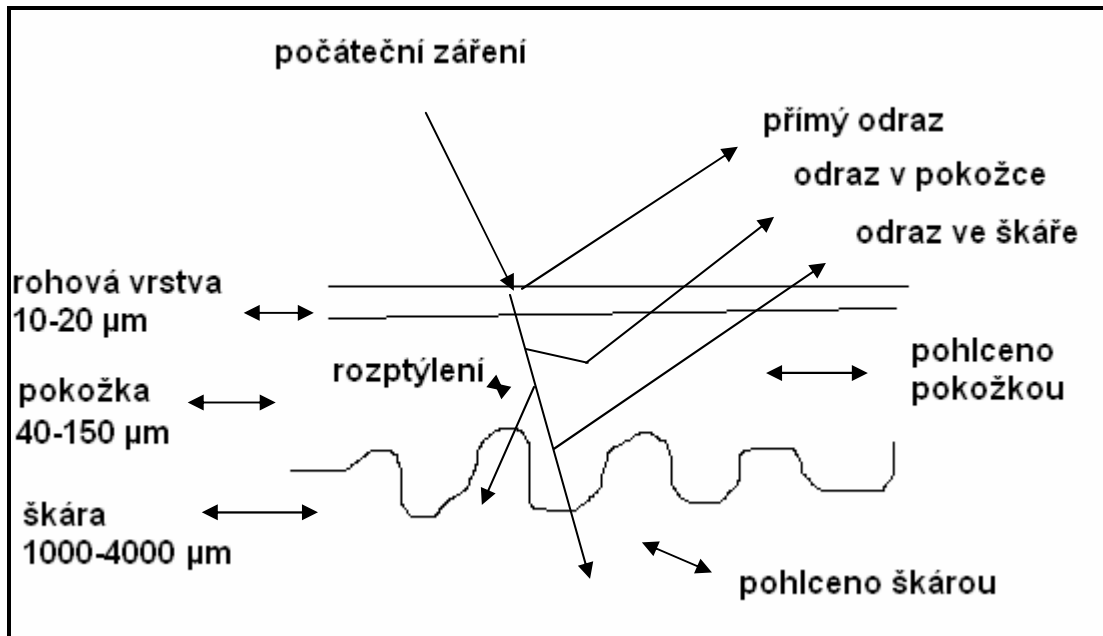
Obr. 3 Typy záření [42]

2.2 Průnik UV záření do kůže

Sluneční paprsky dopadající na kožní povrch obsahují záření UVB, UVA, VR i IR. Se ztenčováním stratosférické ozonové vrstvy se může vyskytnout i UVC záření, které se v minulosti vyskytovalo jen ve stratosféře.

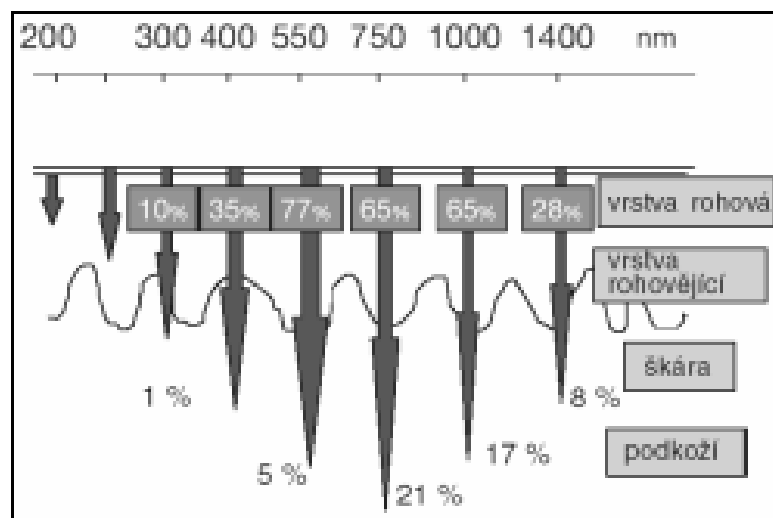
Při dopadu na kožní povrch je část paprsků přímo odražena, zbytek proniká do kůže a v jednotlivých jejích vrstvách se část paprsků odráží a část je absorbována. Průnik paprsku je závislý na jeho vlnové délce. Absorpce energie je zprostředkována chemickými látkami, chromofory, které jsou však schopny pohltit jen záření o určité vlnové délce, čemuž odpovídá jejich absorpční spektrum. Atomy chromoforu přecházejí prostřednictvím

energie záření ze základního energetického stavu do stavu excitovaného. Absorbovaná energie je pak zdrojem všech fotobiologických pochodů odehrávajících se v kůži. Vlivem působení záření nastávají v kůži podle intenzity působících paprsků, odolnosti kůže (dané typem kůže) a doby, po kterou se pochody odehrávají, akutní nebo chronické změny. [27]



Obr. 4 Průnik UV záření do kůže [27]

Sluneční záření proniká do kůže bělocha více než u kůže pigmentované. Průnik záleží na vlnové délce a absorpci chromofory (např. hnědým pigmentem – melaninem). Množství energie pohlčené v jednotlivých vrstvách kůže je patné z Obr. 5. [27]



Obr. 5 Penetrace záření do kůže [27]

Ultrafialové záření může na kůži vyvolávat dva druhy účinků:

- a) časné (radiačně zprostředkovaný zánět, opálení, imunologické změny atd.)
- b) pozdní (stárnutí kůže, fotokancerogeneze) [4]

2.3 Časný typ účinků

2.3.1 Radiačně podmíněný zánět

Absorpce ultrafialového záření bílkovinami a DNA kůže má za následek vznik molekulárního a buněčného poškození, spojeného s poruchou tkáňových funkcí a zánětem. Příznaky zánětu, tzn. erytém, otok, pálení a bolest, nastávají spolu s poruchami funkce v průběhu několika hodin, nejvýš dnů.

Erytemogenní je převážně UVB-záření vlnové délky kolem 300 nm. Pokud jde o subjektivní pocity, pak nejintenzivnější pálení nastává po expozici UVB-radiaci vlnové délky 307,5 nm. Minimální erytémová dávka UVB-záření je závislá na objektivních podmínkách, charakteru zářiče, stavu kůže a individuálních vlastnostech ozářené osoby. [4]

Zánětlivý erytém je nejnápadnější akutní kožní odpověď na UV ozáření u bílé populace a je spojen s jinými klasickými známkami zánětu, jako je zvýšená teplota, bolest a otok. Erytém se objeví, když se zvýší objem krve v povrchových a hlubokých pleteních koria v průměru o 38% nad normální úroveň. Protože se dá poměrně dobře zaznamenávat, je erytém dobrým měřítkem fotobiologických dějů v kůži. [5]

2.3.2 Opálení

UV záření způsobuje zvýšení pigmentace kůže, k němuž dochází ve dvou rozdílných fázích. [5]

2.3.2.1 Časné pigmentační ztmavnutí (IPD - immediate pigment darkening)

IPD je rychlé ztmavnutí kůže, které začíná během UV ozáření a je maximální bezprostředně po něm. Podstatou tohoto procesu je fotooxidativně zprostředkované ztmavnutí preformovaného melaninu a jeho přenos z melanocytů do keratinocytů. IPD po slabé expozici mizí za několik minut, po velkých dávkách záření může přetrvávat několik dní a smísit se s již vytvářenou pozdní pigmentací. Nebrání ani pozdějšímu vzniku zánětlivého erytému, i

když melaninové „čepičky“ nad jádry epidermálních buněk do jisté míry chrání citlivější intracelulární struktury. [4], [5]

2.3.2.2 Pozdní pigmentace (PPD - persistent pigment darkening)

Pozdní pigmentace vyvolaná expozicí UV je výsledkem zvýšené tvorby nového melaninu a je patrná asi za 72 hodin. Pozdní typ opálení je trvalejší a udržuje se po dny i týdny.

Pozdní opálení vyžaduje vytvoření nového melaninu v melanocytech a jeho transfer do keratinocytů. Zvětšuje se přitom velikost, mění tvar a stoupá i enzymová aktivita melanocytů, aktivují se klidové melanocyty a vytvářejí nové v diferenciačních pochodech jejich buněčných prekurzorů. [4], [5]

2.3.3 Imunologické změny

Kůže má svůj vlastní imunitní systém. Jeho součástí jsou keratinocyty, Langerhansovy buňky, speciální typ T-lymfocytů a endoteliální buňky, které umožňují aktivovaným lymfocytům přestup z krve do kůže. [5]

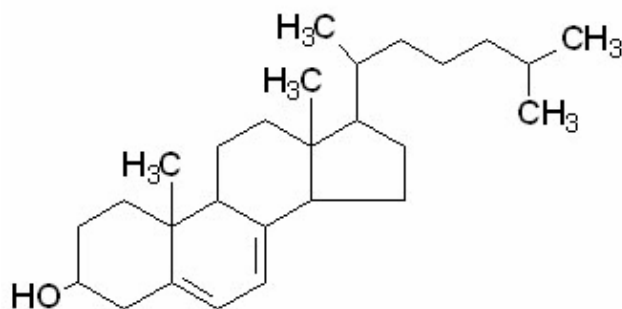
Všechna tři pásma ultrafialového záření vyvolávají na kůži i při nízkých dávkách radiace poškození Langerhansových buněk a ovlivnění jejich funkce.[4]

2.3.4 Hyperplazie kůže

Hyperplastické změny, trvající i několik měsíců, přicházejí běžně po UVB -, ne však po UVA-radiaci. Tyto změny jsou následkem urychlení syntézy DNA, RNA a bílkovin s mnohonásobným zvýšením mitotické aktivity keratinocytů, nastávající po jejím krátkodobém snížení. Epidermis i korium se ztlušťují až čtyřnásobně, což přináší významný vzrůst fotoprotektivní schopnosti kůže. Hyperplazie se ve svých fotoprotektivních vlastnostech významně uplatňuje zejména u osob světlé pleti, kde větší opálení nenastává. [4]

2.3.5 Syntéza vitamínu D

Kůže je po jaterní tkáni nejvýznamnějším místem tvorby cholesterolu. Derivát této sloučeniny 7-dehydrocholesterol (Obr. 6) se mění v provitamin D3 převážně v epidermis. Po dekarboxylaci a izomerizaci se metabolizuje ve vitamin D3, který je transportován do oběhu po vazbě na specifické proteiny. [4]



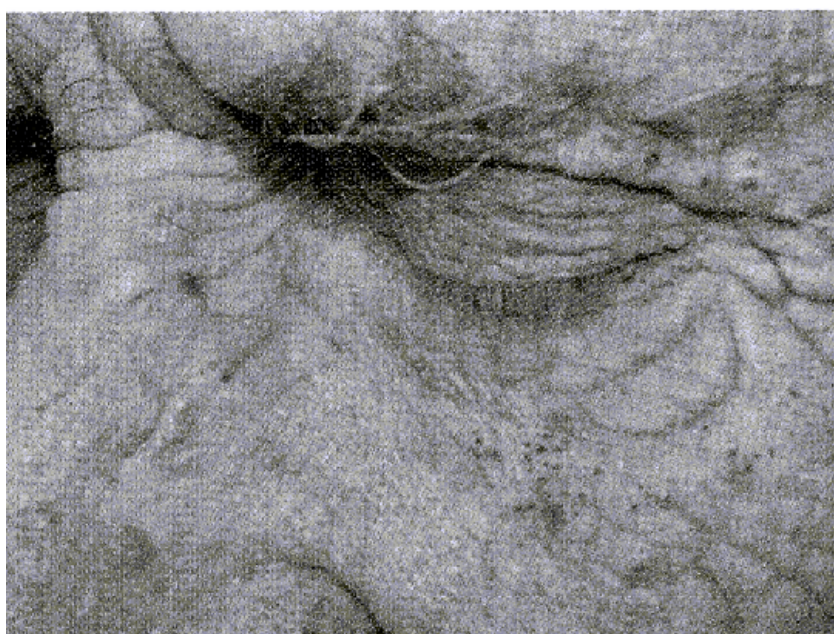
Obr. 6 Vzorec: 7-dehydrocholesterol [33]

Studie na zvířatech ukazují, že nízký příjem vitamínu D je spojen s onemocněním jako je křivice, úbytek kostní hmoty, roztroušená skleróza, hypertenze, rakovina prsu, prostaty, tlustého střeva, diabetes a schizofrenie. [25]

2.4 Pozdní typ účinků

2.4.1 Stárnutí kůže (Photoageing)

Stárnutí kůže je složitý biologický jev, který se skládá ze dvou částí. Je to vnitřní stárnutí, které je do značné míry geneticky podmíněné, a vnější stárnutí, které je způsobené vlivy životního prostředí, především UV světlem. Vnější stárnutí, častěji nazývané photoageing, zahrnuje změny v oblasti buněčné biosyntetické činnosti, ale vede také k poškození kožní matrix. [25]



Obr. 7 Poškození kůže po nadměrném slunění [5]

Photoageing je jev nastávající vlivem kumulujícího se poškození DNA, vyvolávaného opakovanou expozicí slunci, eventuálně i umělým UV-zářičům. Přitom epidermis je poškozována převážně UVB-paprsky, dermis jak UVB -, tak i UVA-paprsky. [4]

Na kůži se projevuje ztrátou elasticity, postupným vznikem hlubokých vrásek, suchostí a drsností kůže, žloutnutím, nepravidelnou pigmentací, případně i vznikem komedonů (Obr. 7). [4], [25]

2.4.2 Fotokarcinogeneze

Jak UVB, tak v menší míře i UVA-radiace vyvolávají vznik aktinických keratóz a nemelanomových zhoubných kožních nádorů, bazaliomu a spinaliomu. V menší míře to platí i pro maligní melanom. Zodpovídají za to patrně změny DNA spočívající v chybné opravě jejího poškození způsobeného zářením, společně s poruchou imunitních funkcí.

2.5 Obecné shrnutí účinků

Pozitivní účinky UV

- syntéza vitamínu D a produkce melaninu
- můžeme sem zařadit i vliv na psychiku, protože mnoho opálených lidí si připadá atraktivní

Akutní účinek UV

- otoky, spálení pokožky, předčasné stárnutí, případně olupování kůže po spálení

Chronický účinek UV

- povolení podkožního vaziva, suchost kůže, pigmentové skvrny, tvorba vrásek, předčasné stárnutí kůže a celého organismu, a karcinomy [6]

3 FOTOPROTEKCE

Fotoprotekce je ochrana před působením záření, zejména ultrafialového. K zevní ochraně se používají sunscreensy, endogenně se používá např. beta-karoten. Běžně se fotoprotekce používá jako ochrana při opalování, zásadní význam pak má při fotodermatózách.

3.1 Principy přirozené fotoprotekce

Lidská kůže vykazuje určité rasové odchylky, které se projevují zejména odlišnou barvou. Barva kůže je určena především obsahem melaninu a jeho distribucí v epidermis. Tato vlastnost kůže je zřejmě výsledkem dlouhodobého fylogenetického vývoje (černá kůže je přizpůsobena podmínkám tropického pásma, bílá kůže naopak nízké intenzitě slunečního záření v oblastech mírného pásma) a je každému jedinci geneticky dána. Fakultativní kožní barva je potom ztmavnutí kůže jako odpověď na UV ozáření a je taktéž geneticky dána.

Podle tendence ke zrudnutí a schopnosti ztmavnout můžeme rozdělit lidi do tzv. kožních fototypů (Tab. 1).

Tab. 1 Přehled fototypů [37]

Kožní fototyp	Charakteristika	Reakce kůže na slunce*
I	Bledá kůže Pihy Modré/ zelené/ oříškově hnědé oči Vlasy blond/ hnědá/ zrzavá	Velmi citlivá Vždy se spálí Nikdy nepigmentuje
II	Světlá kůže Modré/ zelené oči	Snadno se spálí Někdy slabě pigmentuje
III	Tmavší bílá kůže	někdy se opálí do červena Vždy pigmentuje (do světle hněda)
IV	Světle hnědá kůže	Spálí se minimálně velmi dobře pigmentuje (až do středně hněda)
V	Hnědá kůže	Zřídka se spálí Dobře pigmentuje
VI	Tmavě hnědá/ černá kůže	Nikdy se nespálí Velmi dobře pigmentuje

Každému kožnímu fototypu odpovídá průměrná minimální erytémová dávka (MED), tzn. taková dávka světelného záření, která je schopna na kůži vyvolat zřetelný erytém při

hodnocení za 24 hodin po ozáření. [5] Ochranný faktor (SPF) daného prostředku ke slunění pak vyjadřuje násobek času, o který oddálíme vyvolání erytému (Tab. 2).

Tab. 2 Hodnoty slunečního ochranného faktoru (SPF) doporučené pro jednotlivé fototypy kůže při prvním opalování [11]

UV-index*	Kožní fototyp			
	I.	II.	III.	IV.
1-3	SPF 15	SPF 10	SPF 5	-
4-6	SPF 25	SPF 20	SPF 10	SPF 5
7-9	SPF 40	SPF 30	SPF 20	SPF 15
10 a více	SPF 50	SPF 40	SPF 30	SPF 20

* UV-Index je mezinárodně standardizovaná bezrozměrná veličina, která vyjadřuje efekt ultrafialového záření na lidské zdraví. [45]

Základní obranné mechanismy lidské kůže zahrnují několik složek, z nichž největší význam má tloušťka rohové vrstvy a melaninová pigmentace.

Keratinizace vede k vytvoření kompaktní soudržné vrstvy z rohových buněk (stratum corneum) různé tloušťky (15-50 μm či více), která obsahuje proteiny absorbující UV záření (keratinové aminokyseliny: histidin, tyrosin, tryptofan atd.). Rohová vrstva neabsorbuje a neodráží jen dopadající UV záření, ale také oslabuje jeho rozptyl. Na disulfidické můstky bohatý keratin umožňuje dobrou absorpci 290-320 nm, která je významná zvláště u osob s vitiligem a u albínů. Např. rohová vrstva na dlaních má tak silnou ochrannou schopnost, že k vyvolání erytému je potřeba 15-20 násobku MED.

Melaninové pigmentace - melanozomy přítomné v epidermis nejenže absorbují UV záření, ale také oslabují záření rozptylem. Melanin funguje také jako lapač volných radikálů, které vznikají v kůži po UV ozáření, a jako optický filtr, který chrání jadernou DNA keratinocytů, stejně tak i dermální proteiny, kolagen a elastin, před UV poškozením.[5]

3.2 Fotoprotektivní prostředky k zevnímu použití

První prostředek na ochranu před působením slunečního záření, který se na trhu objevil již začátkem 20. let, byl v různých obměnách vyráběn a prodáván do 60. let, kdy jej nahradila kyselina paraaminobenzoová, která již na seznamu UV filtrů povolených k použití v kosmetických prostředcích nefiguruje. [4], [46]

Fotoprotektivní faktor

K objektivnímu posouzení fotoprotektivní účinnosti těchto preparátů začalo být užíváno stanovení jejich tzv. fotoprotektivního faktoru podle návrhu rakouského dermatologa Greithera. Faktor byl uveden číslem a vyjadřoval kvocient minimálních erytémových dávek na kůži s naneseným preparátem a bez něj. Zdrojem záření bylo původně přirozené slunce, později pak různé umělé zářiče emitující radiaci pásma UVB.

Fotoprotektivní faktor tedy udává, kolikrát déle lze vystavit kůži s naneseným ochranným prostředkem slunci, aniž by došlo k vzniku erytému. [4] Stanovení fotoprotektivního faktoru je upraveno v Doporučení Komise 2006/647/ES, kde je možné nalézt odkaz na metodu, kterou v roce 2006 publikovala COLIPA. Tato metoda je závazná pro členské státy EU. [43]

Protektivní prostředky

Logická úvaha vedla pochopitelně k snaze o vyvinutí účinnějších protektivních prostředků, které by potencovaly vliv přirozené pigmentace. Cesta se ubírala jednak směrem k vývoji chemických, jednak fyzikálních UV-filtrů. Prvně jmenované působí pomocí absorpce UV-záření, druhé blokují průnik záření kůží tím, že zvyšují její reflexní účinnost, rozptylují dopadající světlo a zčásti ho i absorbují. Kromě schopnosti chemickým nebo fyzikálním způsobem omezovat škodlivé působení solární radiace musí jednotlivé fotoprotektivní prostředky být navíc rezistentní proti smývání (být tzv. „voděodolné“).

Galenické formy prostředků ke slunění jsou velmi pestré a jedná se jak o emulze typu voda v oleji nebo olej ve vodě, tak i o oleje, hydrogely, lipogely, vodné a alkoholové roztoky a spreje. Velmi příznivě v tomto směru působí zejména přítomnost polyakrylamidů, odpuzejících vodu a vodné roztoky.

Nověji se objevují jako nosiče fotoprotektivních ingrediencí lipozomy tvořené několika vrstvami dvojité fosfolipidových membrán kolem vezikul o malém rozměru. Tyto mem-

brány jsou podobné přirozeným biomembránám a lipozomy mají proto značnou afinitu k rohové vrstvě. Jsou přitom schopny inkorporovat fotoprotektivní ingredienci do stratum corneum a zabezpečit tak její delší působení a větší voděodolnost.

Sunscreeny (fotoprotektiva) jsou látky, které ochraňují strukturu a funkci lidské kůže před UV poškozením. Přestože v USA jsou považovány za léky a vztahují se na ně přísné předpisy FDA, v Evropě jsou řazeny mezi kosmetické prostředky. [5] Filtry ultrafialového záření můžeme podle jejich účinku rozdělit do tří skupin. UV filtry účinné pro UVB oblast záření, pro UVA oblast záření a širokopásmové UV filtry, které pokrývají UVB i UVA oblast slunečního spektra. Většina UV filtrů na pozitivním seznamu vyhl. č. 448/2009 Sb., pokrývá UVB oblast záření, filtrů pro UVA oblast záření a širokopásmových filtrů je menšina.

Podle mechanismu působení své aktivní složky se většinou rozdělují na:

- **chemické sunscreeny** (absorbéry, filtry)
- **fyzikální sunscreeny** (blokátory, opony) [6]

Chemické sunscreeny se vlastně chovají jako fotosenzitivní (látky, které způsobují podráždění v souvislosti se světlem, ev. ultrafialovým zářením. [7]), neboť absorbují specifické fotony UV-záření. Jelikož se však tato absorpce děje v rohové vrstvě, kde již nejsou přítomny živé buňky, působí tyto prostředky fotoprotektivně. [4]

3.2.1 Sunscreeny chemické povahy

Sunscreeny chemické povahy mají selektivní aktivitu v různých oblastech absorpčního spektra. Z toho vyplývá i omezená působnost fotoprotektivních prostředků při použití u fotodermatóz, majících své akční spektrum v UVA-oblasti.

Prostředky na ochranu proti slunečnímu záření by měly poskytovat ochranu nejen proti UVB složce záření, která navozuje akutní solární zánět ve formě tzv. "spálení kůže", ale i proti UVA radiaci. Při expozici UVA složce záření obdobný varovný signál v podobě zánětu (zarudnutí) kůže chybí. Tato skutečnost vyvolává někdy diskuse, že aplikace ochranných prostředků s převažujícím obsahem UVB filtrů, ale nedostatečným obsahem UVA, filtrů může k rakovině kůže spíše přispívat, než před rakovinou chránit.

Další problém tkví v tom, že při použití takovýchto prostředků se sice zabrání vzniku erytému, evokovaného paprsky pásma UVB, ale ozařovaný nepozná, že se vystavuje nadměr-

né UVA-radiaci, která je jen málo erytémogenní. Ze schopnosti UVA-radiace penetrovat hlouběji do kůže vyplývá skutečnost, že je toto záření zachycováno a absorbováno více chromofory, majícími následné onkogenní a imunogenní vlastnosti. [38]

3.2.1.1 *UVB sunscreens*

Přes velké množství různých chemických sloučenin schopných blokovat sluneční záření v této spektrální oblasti je to prakticky jen málo prostředků, které se používají běžně.

Patří mezi ně:

3.2.1.1.1 Ethylhexyl methoxycinnamate

Ethylhexyl methoxycinnamate je nejčastěji používanou složkou opalovacích krémů, avšak vyžaduje přítomnost dalších UVB blokátorů v receptuře pro dosažení vyššího SPF konečného výrobku. [16]

3.2.1.1.2 3-Benzylidene camphor

3-Benzylidene camphor je lipofilní UVB filtr, který se používá v koncentracích do 2%. [40], [41]

3.2.1.1.3 Octocrylene

Octocrylene (2-Cyano-3,3-diphenyl acrylic acid, 2-ethylhexyl ester) je chemicky příbuzný cinamátům. Může být použit k posílení SPF a ke zlepšení odolnosti proti vodě v daném složení. Octocrylen je fotostabilní a může zlepšit fotostabilitu jiných ochranných prostředků proti slunečnímu záření. Je však velmi drahý.

3.2.1.1.4 Phenylbenzimidazole sulfonic acid

Phenylbenzimidazole sulfonic acid (Ensulizole) je ve vodě rozpustný UVB absorbér, který může být použit ve vodních fázích emulzních systémů, na rozdíl od většiny v oleji rozpustných složek opalovacích krémů. Umožňuje méně mastný vzhled, je příjemný na dotek a umožňuje denní používání. Ensulizole zvyšuje SPF organických a anorganických sunscenů. Vzhledem ke své rozpustnosti ve vodě může být také použit v gelech.

3.2.1.1.5 Ethylhexyl triazone

Ethylhexyl triazone (T Uvinul 150) je UVB absorbér s absorpčním maximem 314 nm. [17]

3.2.1.2 UVA-sunscreeny

Filtry na ochranu proti UVA složce záření představují zejména benzophenony a butyl methoxydibenzoylmethane. Jejich nevýhodou je jednak nestálost, jednak schopnost způsobovat kontaktní fotoalergické reakce. Vedlejší reakce, ať již kontaktní iritační nebo alergickou dermatitidu nebo reakce fototoxické či fotoalergické, mohou ovšem způsobovat i další složky základu prostředků ke slunění, jako jsou parfémy, konzervační látky nebo stabilizátory.

3.2.1.2.1 Benzophenone-3

Přestože benzophenone-3 absorbuje nejefektivněji v rozsahu UVB, absorpce zasahuje i do oblasti UVA. Oxybenzone je dodáván v pevné formě a má špatnou rozpustnost. Sulisobenzon nebo benzophenone-4 jsou rozpustné ve vodě, ale jsou poněkud nestabilní a proto se používají méně často.

3.2.1.2.2 Butyl methoxydibenzoylmethane

Butyl methoxydibenzoylmethane (Avobenzone, známý také jako Parsol 1789) absorbuje vlnové délky od 320nm do 400 nm (v oblasti UVA). [14]

3.2.2 Fyzikální sunscreeny

Jsou neprůsvitné kapalné, olejovité nebo krémové substance, blokující průchod slunečního světla prostřednictvím obsažených pigmentů. Jejich efektivita přitom závisí na velikosti pigmentových částic a síle vrstvy, v níž jsou na kůži nanášeny. [4]

Fyzikální sunscreeny odrážejí nebo rozptylují ultrafialové záření. Novější mikro-formy fyzikálních sunscreenů mohou také z části UV záření absorbovat. [19]

Jako fyzikální sunscreen se užívá oxid titaničitý. Krycí schopnost je kromě shora uvedených podmínek závislá na kvalitě suspenze a hustotě pigmentových částic, individuální reflexní schopnosti té které látky, míře případné absorpce a vlnové délce záření dopadajícího na kůži. Při vyšších koncentracích pigmentů poskytují tyto blokátory dostatečnou ochranu jak vůči UV-paprskům, tak i viditelnému a infračervenému záření. Jejich nevýhodou je kosmetická nepříjemnost při aplikaci na větší kožní plochy, zejména na obličej. [4]

3.2.2.1 Oxid titaničitý

TiO₂ byl první široce používaný mikropigment. Mezi jeho přednosti patří široké spektrum ochrany (UVA i UVB oblast) a minimální iritační potenciál. Novější materiály jsou navrženy tak, aby se částice rozptýlily ve vodě i v olejové fázi. Velikosti částic a jednotnost rozptylu jsou klíčem k dosažení příslušné hodnoty SPF. Primární velikost částic může být 10 - 15 nm, střední až 100 nm. V recepturách prostředků ke slunění se zpravidla používá TiO₂ o velikosti částic cca 80 nm. Velikost částic však musí být menší než 200 nm pro dosažení transparentnosti. Přes pokroky v technologii a pochopení těchto materiálů, zůstává problémem sekundární pigmentový zbytek, který způsobuje bělení. Přidání dalších pigmentů simulujících barevné tóny pleti může částečně bělicí efekt maskovat.

„Ultrajemné“ pigmenty, s částicemi menšími než 100 nm, mají větší odrazecí a rozptylovací schopnost pro sluneční světlo ve viditelné oblasti, přeneseně i v UVB-pásmu. Jejich použitím se lze vyhnout i nežádoucím kosmetickým problémům sunscreenů předešlé skupiny. Z konkrétních látek se mikronizovaný oxid titaničitý uplatňuje pro fotoprotekci v pásmu UVA/UVB a oxid zinečnatý v pásmu UVA-záření. Viditelné ani infračervené záření tyto mikropigmenty nezachycují. Mikropigmenty jsou dnes schopny samy docílovat ochranného slunečního faktoru 15 a více. Tyto supermikronizované fyzikální fotoprotektivní prostředky se doporučují zejména pro fotoprotekci u malých dětí. [4] Pro faktory vyšší než SPF = 25 se v současné době používají kombinace chemických a fyzikálních filtrů, protože samotná TiO₂ by vyšších hodnot nedosáhla. Použití biopersistentních a nerozpustných ingrediencí ve formě nano (méně než 100 nm) musí schvalovat v EU Vědecký výbor pro bezpečnost spotřebitele.

3.2.3 Kombinovaná fotoprotekce

Většina zatím používaných fotoprotektivních prostředků představuje kombinaci chemických UVB a UVA-filtrů, často s přídavkem fyzikálního UV-blokátoru. [4]

Podle ochrany proti slunečnímu se výrobky řadí do 4 kategorií. Jednotlivé kategorii také odpovídá ochranný sluneční faktor (Tab. 3).

Tab. 3 Kategorie prostředků na ochranu proti slunečnímu záření včetně ochranných slunečních faktorů [39]

Kategorie uvedená na výrobku	Ochranný sluneční faktor uvedený na výrobku	Naměřený ochranný sluneční faktor	Doporučený minimální ochranný faktor proti UVA	Doporučená minimální kritická vlnová délka
"Nízká ochrana"	"6"	6 - 9,9	1/3 ochranného slunečního faktoru uvedeného na výrobku	370 nm
	"10"	10 - 14,9		
"Střední ochrana"	"15"	15 - 19,9		
	"20"	20 - 24,9		
	"25"	25 - 29,9		
"Vysoká ochrana"	"30"	30 - 49,9		
	"50"	50 - 59,9		
"Velmi vysoká ochrana"	"51 +"	$60 \leq$		

4 STANOVENÍ UVA-PF METODOU IN VITRO

Kosmetické prostředky chránící proti slunci mají stupeň ochrany před slunečním erytémem označen faktorem ochrany proti slunci (SPF). Poněvadž je hodnota SPF ovlivněna primárně vlnovou délkou UVB, nemusí vždy být dostatečným ukazatelem ochrany proti vystavení záření UVA.

V posledních letech byly škodlivé účinky vlnových délek UVA ve slunečním záření hlouběji prokázány. S tímto zjištěním narostla nejen poptávka po ochraně proti slunci, která by snižovala účinek UVA záření, ale také po testovací metodě měření stupně ochrany proti UVA.

Při hledání doplňující metody pro oddělené měření schopnosti opalovacího prostředku chránit před zářením UVA bylo zjištěno, že metoda in vitro je nejvhodnější, pokud by metoda korelovala s výsledky zjištěnými metodou in vivo pro určování UVA ochrany na lidských dobrovolnících. Aby této korelace bylo dosaženo, do testovací procedury se musela zahrnout také jakákoliv fotonestabilita u testovaných opalovacích výrobků.

Stanovení UVA-PF metodou in vitro se opírá o rozsáhlé „kruhové testy“ (ring testing), zahrnující zkoušení v řadě laboratoří ve světě. Byla zjištěna významná korelace mezi výsledky získanými in vitro a UVA ochrannými faktory (UVA-PF) stanovenými na lidských dobrovolnících při použití dříve rozšířené metody in vivo, „Persistent Pigment Darkening“ (PPD). [44]

Evropská komise ve svém Doporučení z 22. září 2006 o účinnosti prostředků na ochranu proti slunečnímu záření (2006/247/EC) uvádí, že prostředky s UVA/UVB ochranou musí dosahovat hodnoty pro ochranu proti UVA složce záření ve výši 1/3 z celkové hodnoty SPF. Hodnoty lze zjistit metodou dle COLIPA (UVA-PF) in vivo nebo jinou metodou in vitro poskytující relevantní výsledky jako metoda ve skupině dobrovolníků. Doporučená minimální kritická vlnová délka musí být vyšší než 370 nm.

Metoda byla vyvinuta a ověřena primárně pro tekuté a emulzní opalovací výrobky.

Cílem této metody je stanovit výši UVA ochrany opalovacího přípravku metodou in vitro.

Tato metoda je založena na měření transmitance UV záření procházející tenkou vrstvou vzorku rozetřeného na zdrsňelém substrátu před a po expozici kontrolovanou dávkou simulovaného slunečního světla z definovaného zdroje UV záření. Vzhledem k mnoha proměn-

ným, které nemohou být kontrolovány typickými spektroskopickými technikami s tenkým filmem, je každá sada transmisních dat matematicky upravena, aby poskytla hodnotu korelující s hodnotou *in vivo* SPF, která byla stanovena *in vivo* testováním.

4.1 Vymezení pojmů

4.1.1 *In vitro* UVA ochranný faktor před expozicí UV zářením (UVA-PF₀)

Vyjadřuje ochrannou účinnost opalovacího přípravku před ozářením.

Tento ochranný faktor je odvozen z transmisní křivky neozářeného vzorku, je porovnán s PPD akčním spektrem a se standardním výstupním spektrem UVA solárního simulátoru a je provedena korekce k SPF stanovenému metodou *in vivo* (korekční faktor "Co").

4.1.2 *In vitro* ochranný sluneční faktor (SPF_{*in vitro*})

Vyjadřuje ochrannou účinnost opalovacího přípravku před zarudnutím způsobeným dávkou UV záření, která je vypočtena z měření transmitance *in vitro*, je statisticky porovnána s erytémovým akčním spektrem a se standardním výstupním spektrem UV solárního simulátoru použitého pro testování vzorku, po korekci k SPF stanovenému metodou *in vivo* (korekčním faktorem "Co").

4.1.3 Spektrum působení, E(λ) pro erytém nebo P(λ) pro PPD

Vyjadřuje relativní efekt jednotlivých spektrálních pásem zdroje expozice pro vytvoření fotobiologických efektů při každé vlnové délce (λ).

4.1.4 Průměrná monochromatická absorpce A_λ

Absorbance opalovacího přípravku při vlnové délce λ je matematicky k transmitanci (T_λ):

$$A_{\lambda} = -\log(T_{\lambda}) \quad (1)$$

Kde (T_λ) je frakce záření, které projde nanosenou vrstvou opalovacího přípravku.

4.1.5 Intenzita záření

Vyjádřená jako poměr záření na jednotku plochy (ve W m⁻²) pro definovaný rozsah vlnových délek od 290 do 400 nm pro UVA + UVB záření nebo od 320 do 400 nm pro UVA záření.

4.1.6 Spektrální záření I(λ) pro SPF nebo PPD testování

Vyjádřené jako poměr intenzity záření na jednotku vlnové délky, I(λ) v W m⁻² nm.

4.1.7 Hodnota kritické vlnové délky

Je jednou z charakteristik pro označení ochrany před UVA zářením měřenou in vitro metodou. Měří se v UVB a UVA oblasti spektra (290 – 400 nm)

Je vyjádřena vlnovou délkou, pod kterou se nachází 90 % záření absorbovaného opalovacím přípravkem. Čím vyšší je kritická vlnová délka ochranného opalovacího prostředku, tím lepší je ochrana před UVA ve vztahu k UVB záření. Pokud je kritická vlnová délka rovna nebo vyšší než 370 nm, lze hovořit o přípravku se širokým spektrem ochrany (broad spectrum) – tj. vyvážená ochrana v UVB a UVA spektru.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 POPIS TESTOVANÝCH VZORKŮ

Pro testování byly vybrány vzorky s různými hodnotami SPF (od 15 do 50+) a různé typy emulzí. Jednotlivé vzorky jsou charakterizovány v Tab. 4.

Tab. 4 Charakteristika vybraných vzorků

Vzorek	SPF na obalu	typ emulze	obsah náplně	cena *
V1	15	mléko	200 ml	730 Kč
V2	15	mechanický rozprašovač	150 ml	350 Kč
V3	20	mléko	200 ml	160 Kč
V4	20	aerosol	150 ml	170 Kč
V5	30	krém	50 ml	650 Kč
V6	30	krém	75 ml	-
V7	50+	krém	50 ml	290 Kč
V8	50+	mléko	200 ml	290 Kč

* Cena je pouze orientační (cena vzorku č. 5 nebyla nalezena).

Pozn.: Nanášení bylo problematické zvláště u vzorku č.4 a vzorku č. 6.

Vzorek č. 4 (aerosol) musel být před nanesením nastříkán do kádinky a ponechán při pokojové teplotě, aby byly odstraněny hnací plyny obsažené ve vzorku a byla měřena účinnost vlastní emulze. Získaný vzorek (kapalina) navíc komplikoval nanášení, když samovolně z jehly odkapával a znemožňoval tak přesné dávkování.

Vzorek č. 6 byl velmi tuhý krém. Komplikovaný byl jak jeho odběr, tak i samotná aplikace. Nanášení vzorku injekční jehlou nebylo možné, protože na desce zůstávaly větší kusy krému. Roztíratelnost krému také nebyla ideální.

Vzorky byly vybírány i s ohledem na jejich ochranný faktor uvedený na obalu. Byly vybrány vzorky v rozmezí SPF 15 až 50+. V tabulce 5 jsou uvedeny UV filtry jednotlivých vzorků a jejich začlení dle oblasti působení. Popis jednotlivých filtrů je uveden v kapitole 3 a jejich seznam včetně vzorců v Příloze I a II.

Tab. 5 Obsah UV filtrů v jednotlivých vzorcích a jejich začlení dle oblasti působení

Číslo a zkratka UV filtru		Oblast působení UV filtru			Vzorek							
		UVA	UVB	UVA/B	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8
1	HMS		*									*
2	B3			*								*
3	PBSA		*			*	*					
4	TDSA	*					*				*	
5	BMDBM	*					*	*			*	*
6	OCR		*				*				*	*
7	EHMC		*		*	*		*		*		
8	EHT					*	*	*				
9	DTS			*			*				*	
10	EHS		*									*
11	MBBT			*	*	*				*		
12	MEMT			*	*			*		*		
13	TiO ₂						*	*	*	*	*	
14	DHHB	*				*						

Kde:

- 1 – Homosalate
- 2 – Benzophenone-3
- 3 – Phenylbenzimidazole Sulfonic Acid
- 4 – Terephthalidene Dicamphor Sulfonic Acid
- 5 – Butyl Methoxy-dibenzoylmethane
- 6 – Octocrylene
- 7 – Ethylhexyl Methoxycinnamate
- 8 – Ethylhexyl Triazone
- 9 – Drometrizole Trisiloxane
- 10 – Ethylhexyl Salicylate
- 11 – Methylen bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol
- 12 – Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyltriazin
- 13 – TiO₂
- 14 – Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate

6 PŘÍSTROJE, MATERIÁLY A POSTUP MĚŘENÍ

6.1 Spektrofotometr

Bylo měřeno na spektrofotometru UV-VIS Cary 100 australské firmy Varian v rozsahu vlnových délek 290-400 nm s kroky po 1 nm.

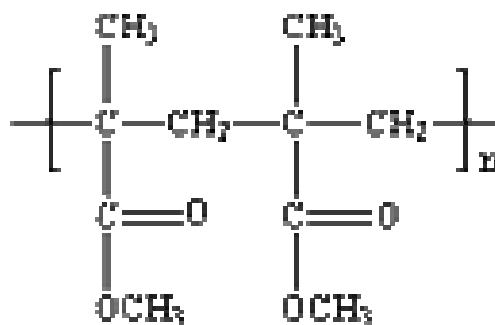
Vstupní optika tohoto spektrofotometru je upravena pro integraci difúzního záření prošlého zdrsňelým povrchem PMMA substrátu bez a s naneseným vzorkem na jeho povrchu. Oblast každého čtecího místa je $0,5 \text{ cm}^2$, aby se snížila variabilita mezi odečty a kompenzovala se nedostatečná rovnoměrnost nanesené vrstvy opalovacího přípravku. Přesnost vlnové délky je $\pm 1 \text{ nm}$ (kontrolováno dodavatelem přístroje na holmiovému standardu). Schopnost přístroje přesně měřit transmissi nebo ochranné faktory je limitována citlivostí přístroje. Přístroj splňuje požadovaný dynamický rozsah pro tuto metodu, tj. 2,2 absorbní jednotky v souladu s návrhem normy ISO/WD 24443 z 11/2009. [47]

Lampa, která se používá k měření transmittance, vyzařuje kontinuální záření v rozsahu 290 – 400 nm a úroveň záření je pod hodnotou, která by nežádoucím způsobem ovlivnila fotostabilitu vzorku. Dávka UV záření během jednoho cyklu měření nepřevyšuje předepsanou hodnotu $0,2 \text{ J/cm}^2$.

6.2 Substrát

Substrát (deska) je materiál, na který se aplikuje testovaný vzorek.

Byly použity PMMA destičky od fy Schönberg (polymethylmethacrylate; Plexiglas™) se zdrsňením $2 \mu\text{m}$ na jedné straně destičky.



Obr. 8 Polymethylmethacrylate [32]

Použité PMMA destičky byly čtvercového tvaru o rozměrech 50 x 50 x 2,5 mm (prostor pro aplikaci vzorku musí být dle návrhu normy ISO/WD 244443 min. 16 cm²), transparentní, nefluorescenční, fotostabilní a inertní vůči všem složkám opalovacích přípravků.

6.3 Slepý pokus

Vlastní měření se provádí proti slepému vzorku, kterým se stanoví propustnost UV záření PMMA destičkou.

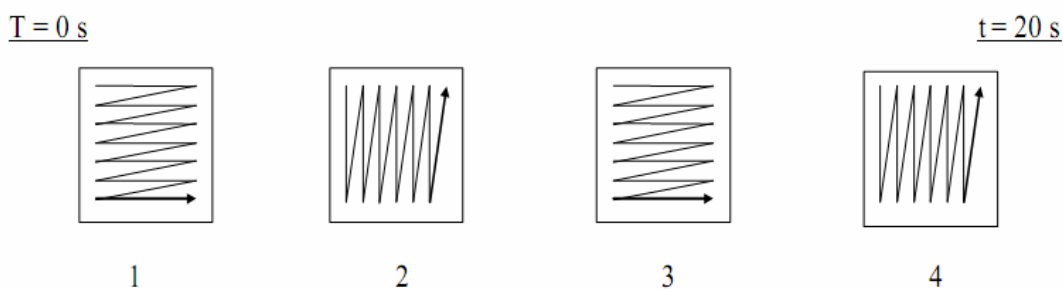
6.4 Příprava vzorku

Z PMMA desky byla odstraněna ochranná fólie a deska byla označena lihovým fixem. Nanášení vzorku probíhalo na analytických vahách na drsnou stranu PMMA destičky pomocí injekční stříkačky. Vzorek byl rovnoměrně nanášen na celou desku pomocí drobných kapek, které měly přibližně stejnou hmotnost.

Slepý vzorek byl připraven nanesením glycerinu (0,75 mg/cm²) na destičku o rozměrech 50 x 50 mm. Nanesený glycerin byl po vyjmutí z vah rozetřen pomocí jednoho prstu, který byl chráněn gumovou rukavicí.

Roztírání mělo dvě fáze. Nejprve byl glycerin co nejrychleji (méně než 30 sekund) a bez tlaku rovnoměrně rozetřen na celou plochu destičky drobnými kruhovými pohyby. Poté byl vetřen do povrchu s použitím tlaku. Tato druhá fáze trvala dalších 20 – 30 sekund.

Stejný postup platí i pro nanášení měřeného vzorku opalovacího přípravku.



Obr. 9 Postup při roztírání glycerinu i vzorku [34]

Je důležité, aby na všechny měřené desky byla použita stejná přítlačná síla.

Pro dosažení stabilizované vrstvy glycerinu nebo výrobku byla destička nejméně na 15 minut uložena na tmavé místo při laboratorní teplotě.

6.5 Vlastní měření I

Spektrofotometr byl zapnut nejméně 10 min před vlastním měřením pro nastavení optimálního chodu přístroje. Prvním krokem bylo měření slepého vzorku. Poté byla proměřena kalibrační destička – standard od dodavatele PMMA destiček. Kalibrační destička má povrch upravený na hodnoty SPF/UVA= 31/9 před ozáření. Odchyłka od deklarovaných hodnot ochranných faktorů může být max. 10 %. V případě odchylky větší, je nutné připravit nový slepý vzorek a měření se standardem opakovat. Jakmile se dosáhne požadované shody s kalibrační destičkou, proměřují se vzorky vlastních opalovacích přípravků. Měření probíhá v rozsahu vlnových délek UV záření od 290 do 400 nm po 1 nm.

Výsledné hodnoty pro každý proměřený bod byly přeneseny do tabulky v Microsoft Excelu, pro výpočet SPF a UVA-PF. Naměřené hodnoty byly zaznamenány a vloženy po převedení do výpočetního souboru Spreadsheet I – list 1. Deska ve spektrofotometru je posunuta a stejným způsobem jsou proměřeny další označené body na desce. Označení nám usnadní orientaci na desce pro měření po ozáření.

6.6 Výběr hodnot

Každý vzorek byl aplikován nejméně na 3 PMMA destičky. Každá destička byla proměřena ve 4 bodech o ploše $0,5 \text{ cm}^2$, aby celková proměřená plocha dosáhla min. 2 cm^2 (dle požadavku v návrhu normy ISO/WD 244443).

Pro výběr hodnot je důležité zaznamenat a uložit všechny hodnoty SPF vypočítané v souboru Excel. Ze všech naměřených hodnot se vypočítá průměr a je vybráno 10 hodnot, které jsou nejbližší k hodnotě průměrné. Tyto hodnoty jsou vloženy do výpočetního souboru Spreadsheet I, kterým je vypočítána hodnota UVA-PF₀, kritická vlnová délka před ozářením, a velikost dávky nutná k ozáření vzorku (D).

6.7 Spreadsheet I

Spreadsheet je výpočetní program v aplikaci Microsoft Excel, který je součástí návrhu normy ISO/WD 244443. Obsahuje 4 listy. Do listu 1, který je označen mA_{F0}, se vkládají naměřené hodnoty, získané před ozářením. List 3 je kalkulační, po vyplnění listu 1, jsou naměřená data korigována s hodnotou stanovenou metodou in vivo, je stanoven rozptyl hodnot daný nerovnoměrným nanesením vzorku na destičce (koeficient CV%), je vypočítána hodnota UVA-PF₀, kritická vlnová délka před ozářením a velikost dávky a doba nutná

k ozáření vzorku (D). Graficky je vyjádřen vztah mezi hodnotou absorpance a vlnové délky a naměřenými hodnotami (mAF_o) a vlnovou délkou.

6.8 Expozice UV zářením

Destička byla exponována dávkou UV záření (UVA a UVB), která byla vypočtena Spreadsheetem I.

Teplota vzorku během ozařování byla kontrolována a nepřekročila rozmezí 35 ± 2 °C v souladu s návrhem normy ISO/WD 24443.

Zdroj UV záření pro ozáření vzorku

Vzorek byl exponován UV záření ze solárního simulátoru SOL 500 fy Dr. Hönle (německo) o intenzitě 40 W/m^2 (kalibrována v souladu s návrhem normy ISO/WD 24443).

Umělý zdroj UV záření byl zvolen tak, aby co nejlíže simuloval sluneční záření podle definice COLIPA (1994) nebo DIN 67501 (1999), udržel teplotu vzorku během ozařování pod 40 °C a splňoval níže uvedené limity:

Tab. 6 Specifikace zdroje světla měřená spektrometricky

Specifikace zdroje světla měřená spektrometricky	
Celkové UV záření (290 to 400 nm)	W/m^2 (5 – 1000)
Poměr záření UVA _(320 - 400 nm) k UVB _(290 - 320 nm)	8 - 22

Referenční standardní slunce má celkové záření od $51,4$ do $63,7 \text{ W/m}^2$ (Colipa 1994 / DIN 67501) a poměr záření UVA k UVB $16,9$ do $17,5$.

6.9 Vlastní měření II

Měření transmitance UV záření prošlého destičkou po ozáření bylo měřeno stejným postupem jako u vzorku neozářeného, ve stejných bodech. Naměřené hodnoty byly zpracovány stejným postupem jako při měření I a vloženy do listu 2 (mAF_x).

6.10 Spreadsheet II

Dosažením požadovaných dat do výpočtového souboru zjistíme pokles UVA ochrany a změny v naměřených hodnotách kritické vlnové délky po ozáření. Na grafickém znázornění absorbančních křivek je dobře vidět fotostabilita vzorku, tj. jeho odolnost vůči rozkladu vlivem UV záření.

6.11 Vyhodnocení

V Tab. 7 a Tab. 8 jsou uvedeny vybrané vzorky a příslušné naměřené hodnoty. Pro srovnání jsou uvedeny i hodnoty SPF *in vivo* a UVA-PF *in vivo*.

6.12 VÝPOČTY

Vzorce použité při výpočtech automaticky prováděné ve Spreadsheetu I a II jsou uvedeny pro informaci.

6.12.1 Výpočet SPF_{*in vitro*}

$$\text{SPF}_{in vitro} = \frac{\int_{\lambda=290nm}^{\lambda=400nm} E(\lambda) * I(\lambda) * d\lambda}{\int_{\lambda=290nm}^{\lambda=400nm} E(\lambda) * I(\lambda) * 10^{-A_0(\lambda)} * d\lambda} \quad (2)$$

kde:

$E(\lambda)$ Erytémové spektrum účinku (CIE- 1987)

$I(\lambda)$ Spektrální záření získané z UV zdroje

$A_0(\lambda)$ Střední monochromatická absorbance v testované vrstvě vzorku před UV expozicí

d_λ Krok vlnové délky (1 nm)

6.12.2 Výpočet upraveného *in vitro* SPF_{*in vitro*} a určení korekčního koeficientu

„Co“

„Co“ je korekční koeficient, určený k úpravě vypočtené hodnoty *in vitro* SPF k hodnotě stanovené metodou *in vivo* (doporučeno rozmezí 0,8 až 1,2).

$$\text{SPF}_{in\ vitro,adj} = \text{SPF label} = \frac{\int_{\lambda=290nm}^{\lambda=400nm} E(\lambda) * I(\lambda) * d\lambda}{\int_{\lambda=290nm}^{\lambda=400nm} E(\lambda) * I(\lambda) * 10^{-A_0(\lambda)*C} * d\lambda} \quad (3)$$

Kde:

$E(\lambda), I(\lambda), A_0(\lambda)$ a $d\lambda$ jsou definovány ve vzorci (2).

6.12.3 Výpočet UVA-PF₀

UVA-PF₀ se počítá pro každou destičku zvlášť.

$$\text{UVAPF}_0 = \frac{\int_{\lambda=320nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) * I(\lambda) * d\lambda}{\int_{\lambda=320nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) * I(\lambda) * 10^{-A_0(\lambda)*C} * d\lambda} \quad (4)$$

Kde:

$I(\lambda)$ Spektrální záření získané z UV zdroje

$A_0(\lambda)$ Střední monochromatická absorbance v testované vrstvě vzorku před UV expozicí

C_0 Korekční koeficient určený v rovnici (3)

$d\lambda$ Krok vlnové délky (1 nm)

6.12.4 Výpočet UVA dávky „D“ pro ozáření vzorku

Jednorázová UVA dávka „D“ je odvozena z hodnoty UVA-PF₀. Vzorek je exponován plným spektrem UV záření, ale dávka je definována podle hodnoty UVA.

$$D = \text{UVAPF}_0 \times D_0 \quad \text{J cm}^{-2} \quad (5)$$

D_0 je jednotková dávka UVA vztažená na UVA-PF₀, která se má aplikovat UV zdrojem. Je experimentálně určená tak, aby bylo dosaženo dobré korelace mezi *in vitro* UVA-PF a *in vivo* PPD hodnotami. Hodnota D_0 byla optimalizována podle celého souboru dat z kruhového testu prováděného Colipou a stanovena jako **1,2 J.cm⁻² UVA**.

6.12.5 Výpočet UVA-PF po UV ozáření vzorku

$$UVAPF = \frac{\int_{\lambda=320nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) * I(\lambda) * d\lambda}{\int_{\lambda=320nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) * I(\lambda) * 10^{-A(\lambda)*C} * d\lambda} \quad (6)$$

Kde:

$P(\lambda), I(\lambda), C$ a d_λ jsou definovány ve vzorci (4).

$A(\lambda)$ Střední monochromatická absorbance v testované vrstvě vzorku po UV expozici

UVA-PF jedné destičky se vypočítá ze střední hodnoty absorbance všech jednotlivých bodů. Jestliže koeficient CV% rozptylu naměřených dat přesáhne 50 %, měla by se destička vyřadit a připravit nová.

6.12.6 Výpočet poměru SPF/UVA-PF

Z hodnot in vivo SPF (SPF_{label}) a in vitro UVA-PF lze vypočítat:

$$Ratio = \frac{SPF_{label}}{UVAPF} \quad (7)$$

Pokud má opalovací přípravek vyhovět platným legislativním požadavkům, potom musí být UVA-PF min. 1/3 z celkového SPF.

6.12.7 Výpočet hodnoty kritické vlnové délky

Čím vyšší je kritická vlnová délka ochranného opalovacího prostředku, tím lepší je ochrana před UVA ve vztahu k UVB záření. Pokud je kritická vlnová délka rovna nebo vyšší než 370 nm, lze hovořit o přípravku se širokým spektrem ochrany (broad spectrum) – tj. vyvážená ochrana v UVB a UVA spektru.

Hodnota kritické vlnové délky λ_c pro testovaný vzorek je definována jako vlnová délka, pod kterou se nachází 90 % záření absorbovaného opalovacím přípravkem.

Soubor absorpčních hodnot (závislých na přírůstku vlnové délky) je vypočítán pro každou ze tří destiček, na které byl aplikován testovaný vzorek. Absorpce každého zvýšení vlnové délky ($A\lambda$) se tedy vypočítá:

$$A_{\lambda} = \log (C_{\lambda} / P_{\lambda}) \quad (8)$$

kde

$$\begin{aligned} C_{\lambda} &= \sqrt[n]{(c_{\lambda}[1] \times c_{\lambda}[2] \times \dots \times c_{\lambda}[n])} \\ P_{\lambda} &= \sqrt[n]{(p_{\lambda}[1] \times p_{\lambda}[2] \times \dots \times p_{\lambda}[n])} \end{aligned} \quad (9)$$

$c_{\lambda}[n]$ aritmetický průměr měření propustnosti v bodě n a při vlnové délce λ pro slepý vzorek (glycerinem potřená PMMA destička)

$p_{\lambda}[n]$ aritmetický průměr měření propustnosti v bodě n a při vlnové délce λ pro ozářený vzorek prostředku ke slunění (PMMA destička)

Kritická vlnová délka λ_c se pro každou ozářenou destičku vypočítá takto:

$$\int_{290}^{\lambda_c} A_{\lambda} \cdot d\lambda = 0.9 \int_{290}^{400} A_{\lambda} \cdot d\lambda \quad (10)$$

Výsledná hodnota kritické vlnové délky pro testovaný výrobek je průměrem naměřených hodnot.

7 NAMĚŘENÉ HODNOTY

Měření bylo provedeno postupem uvedeným v kapitole 6. Výsledné hodnoty pro stanovení SPF a UVA-PF metodou *in vitro* jsou uvedeny v Tab. 7 a Tab. 8. Vzorky jsou seřazeny podle SPF uvedeného na obalu.

V Tab. 7 jsou uvedeny hodnoty SPF a UVA získané metodou *in vivo*, k nimž jsou přiřazeny naměřené hodnoty pro SPF a UVA metodou *in vitro*.

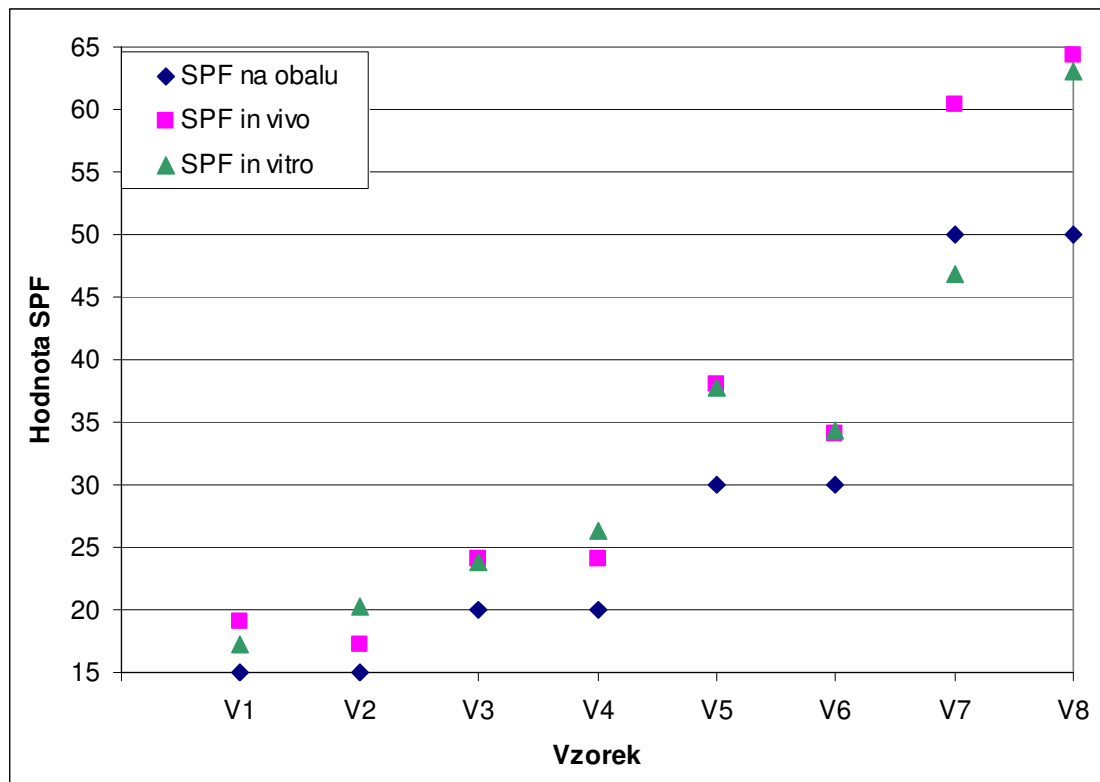
Tab. 7 Vybrané vzorky a naměřené hodnoty I

Vzorek	SPF na obalu	SPF <i>in vivo</i>	SPF <i>in vitro</i>	UVA <i>in vivo</i>	UVA <i>in vitro</i>
V1	15	19,1	17,3	5,2	4,5
V2	15	17,3	20,2	5,8	5,6
V3	20	24,1	23,8	8,0	7,9
V4	20	24,1	26,3	7,5	12,9
V5	30	38,0	37,7	12,2	15,5
V6	30	34,1	34,4	9,2	7,1
V7	50+	60,4	46,9	22,3	12,5
V8	50+	64,3	63,0	22,2	27,3

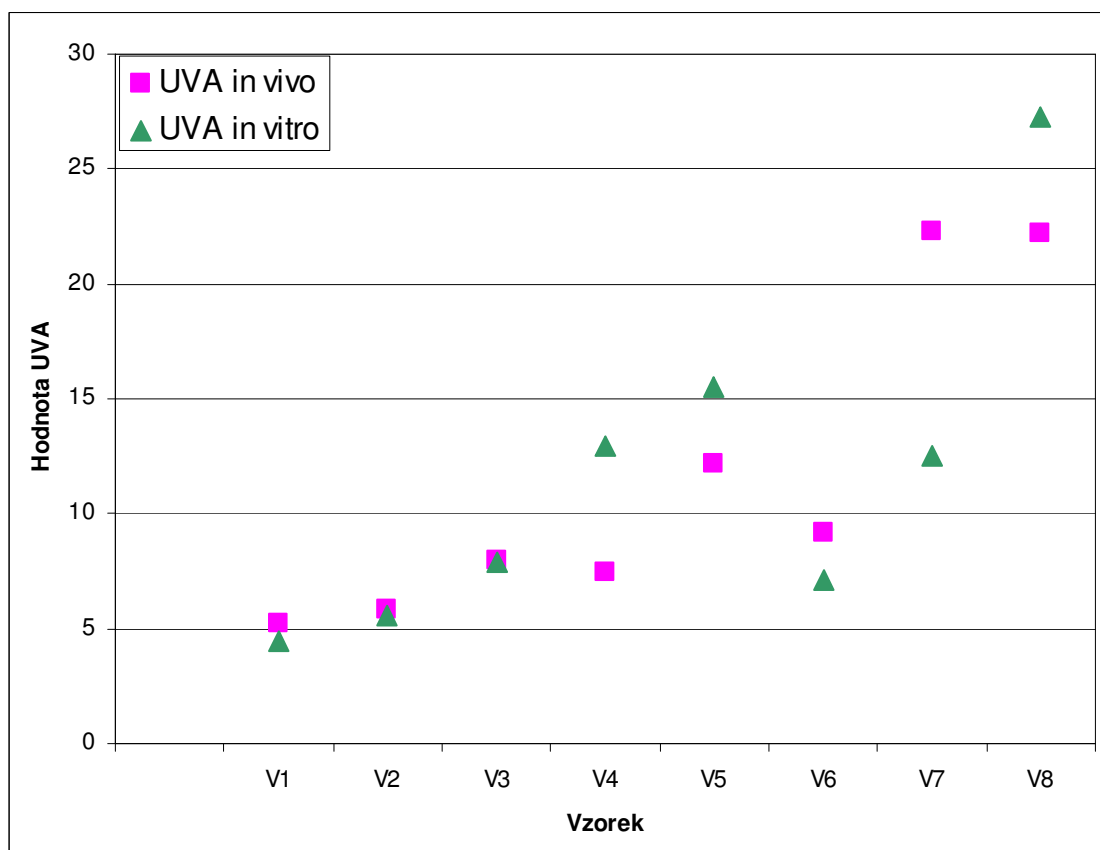
U většiny vzorků bylo dosaženo dobré shody mezi SPF stanoveným metodou *in vivo* a *in vitro*. Větší odchylka byla naměřena u vzorku V2 a to 17 %. U vzorku byl zaznamenán velký pokles o cca 22 %. Ze studijních důvodů bylo i nadále v měření tohoto vzorku pokračováno. Lze předpokládat, že u vzorku V7 došlo k již jeho částečnému rozkladu. Doba mezi stanovením UVA metodou *in vivo* a *in vitro* byla více než 36 měsíců, což je doba přesahující obvyklou životnost výrobku.

Srovnání naměřených hodnot pro SPF je uvedeno také v Obr. 10.

V případě srovnání hodnot UVA, zaznamenaných na obr. 10, bylo dosaženo dobré shody u vzorků V1-3. U vzorků V5, V6 a V8 bylo dosaženo shody 22-23 %. Naopak největší rozdíl byl stanoven u vzorku V7, kde to bylo očekáváno, o cca 56 %. Neočekávaná odchylka byla stanovena u vzorku V4, kde byla stanovena hodnota UVA *in vitro* podstatně vyšší, o cca 42 %. Naměřené hodnoty pro UVA-PF jsou znázorněny na Obr. 11.



Obr. 10 Srovnání hodnot SPF



Obr. 11 Srovnání hodnot UVA-PF

U vzorku č.4 při testu stanovení SPF i UVA-PF in vitro došlo pravděpodobně k dokonalejšímu odstranění hnacích plynů, tím k zakoncentrování emulze a naměření vyšších hodnot metodami in vitro.

Tab. 8 zaznamenává naměřené hodnoty jednotlivých vzorků, které jsou opět seřazeny podle SPF uvedených na obalu.

Tab. 8 Vybrané vzorky a naměřené hodnoty II

Vzorek	SPF na obalu	Co	CV	λ_c (static)	λ_c (Dx)	poměr UVA/UVB	
						před	po
V1	15	-1,04	-0,7	372	373	0,51	0,54
V2	15	-0,939	-1,3	372	372	0,56	0,58
V3	20	-0,978	-1,4	378	375	0,73	0,66
V4	20	-0,974	-0,5	377	377	0,75	0,75
V5	30	-1,004	-0,8	379	379	0,75	0,73
V6	30	-1,001	-1,6	373	374	0,53	0,54
V7	50+	-1,072	-0,8	378	379	0,61	0,65
V8	50+	-1,02	-1,4	381	381	0,82	0,79

Kde:

Co je korekční koeficient, upravující poměr mezi SPF stanoveným metodou in vitro a in vivo, doporučené rozmezí v absolutní hodnotě je mezi 0,8 a 1,2

CV% koeficient variability, vyjadřující rovnoměrnost naneseného vzorku na destičce

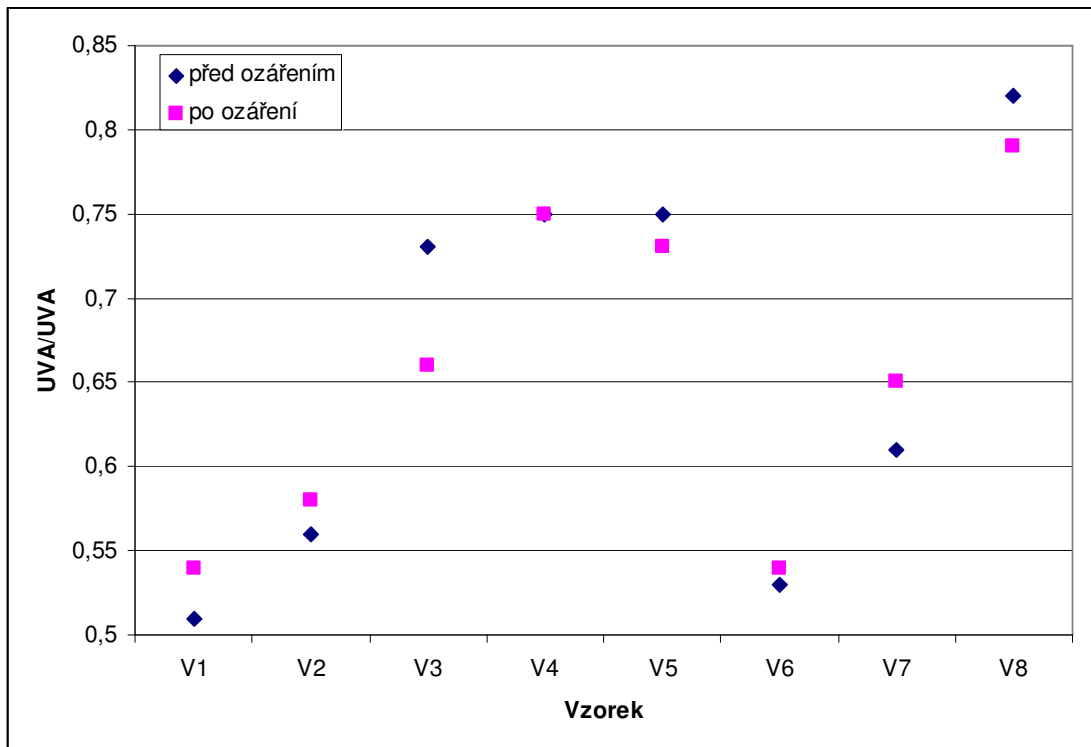
λ_c (static) hodnota kritické vlnové délky před ozářením

λ_c (Dx) hodnota kritické vlnové délky po ozáření

UVA/UVB před je poměr UVA/UVB před ozářením

UVA/UVB po je poměr UVA/UVB po ozáření

Výsledky zaznamenané na Obr. 12 znázorňují poměr UVA/UVB před a po ozářením UV. Hodnota je neměnná pouze u vzorku V4, kdy po expozici UV dochází jen k minimálnímu poklesu naměřených hodnot v oblasti UVA a UVB spektra.



Obr. 12 Graf znázorňující poměr UVA/UVB před a po ozáření

Doba potřebná k ozáření vzorku, byla získána z výpočtu v aplikaci Spreadsheet I. Jednotlivé časy (v hodinách) jsou uvedeny v Tab. 1. Zářeno bylo intenzitou 40 W/m^2 , tj. 4 J/cm^2 ze solárního simulátoru SOL 500 od fy Dr. Hönle.

Tab. 9 Doba ozáření (v hod.)

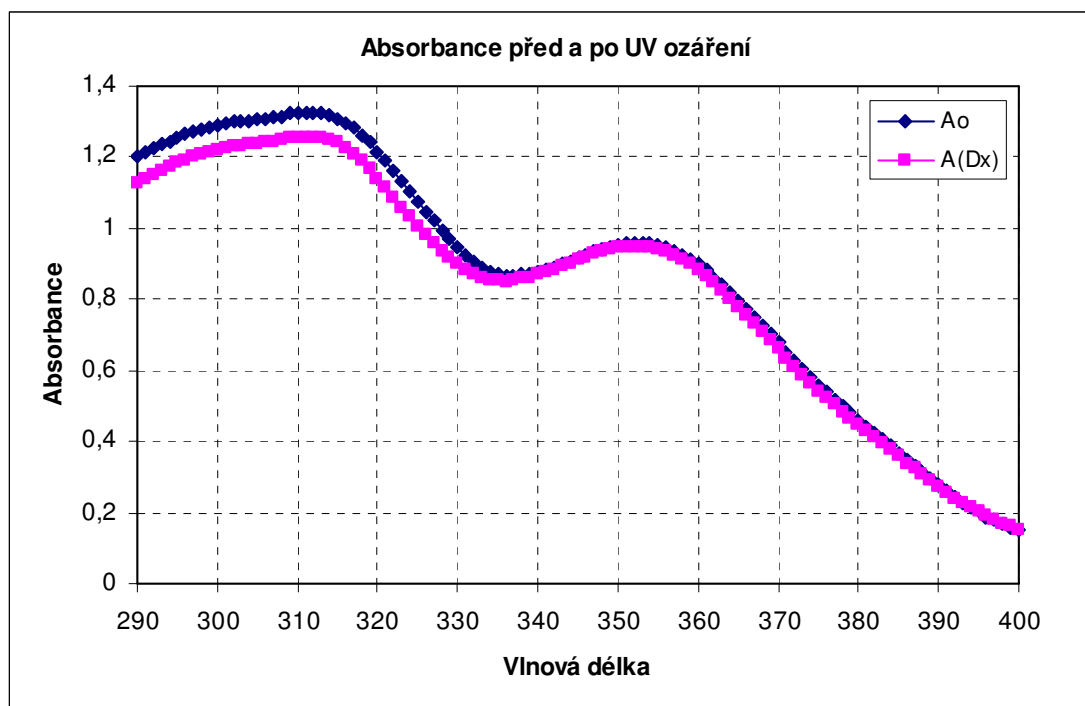
Vzorek	SPF na obalu	UVA in vivo	Doba ozáření
V1	15	5,2	0:21:10
V2	15	5,8	0:24:24
V3	20	8,0	0:55:32
V4	20	7,5	0:59:41
V5	30	12,2	1:16:36
V6	30	9,2	0:29:40
V7	50+	22,3	0:59:10
V8	50+	22,2	2:40:47

8 DISKUZE

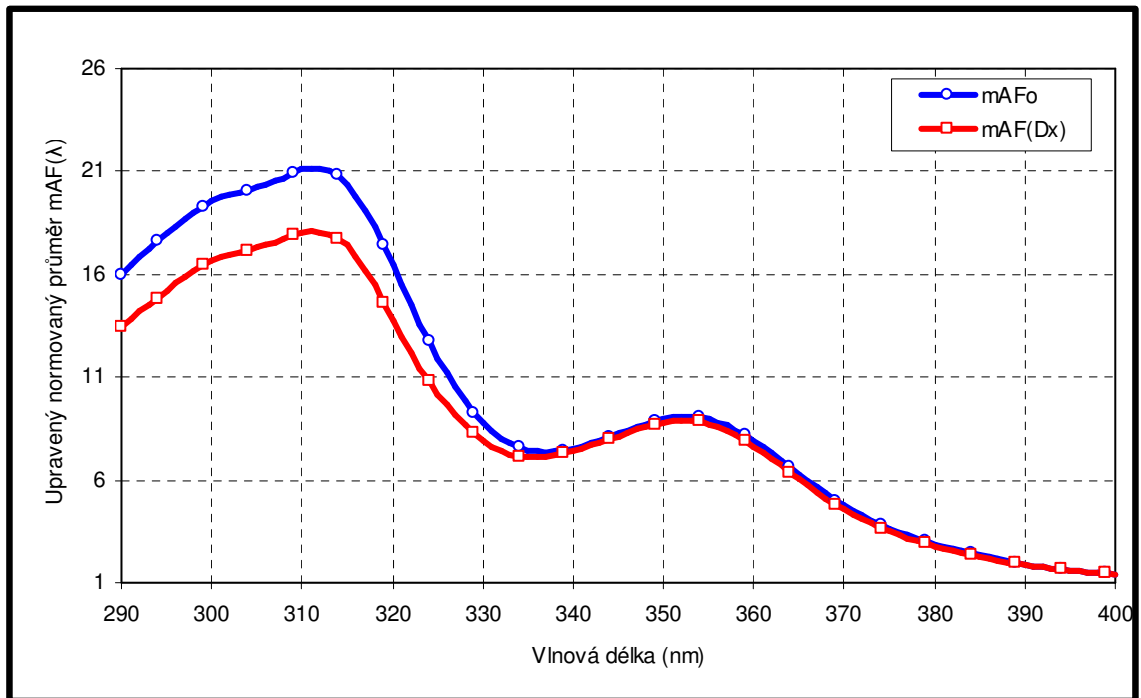
Do diskuze byly vybrány grafy vyjadřující vztah mezi hodnotou absorbance a vlnovou délkou a hodnotou transmitance (mAF) a vlnovou délkou před (A_0 , resp mAF_0) a po ozáření ($A_{(Dx)}$ resp. $mAF_{(Dx)}$) u vzorků V2, V3, V4, V5 a VZ6. Jejich výsledky byly typické pro různý stupeň ochrany a fotostability výrobků. U vzorků ostatních byl zaznamenán obdobný průběh a nejsou proto jednotlivě diskutovány. Na níže uvedených grafech je velmi dobře viditelná fotostabilita a účinnost použitých UV filtrů. Opalovací přípravky musí obsahovat UV filtry v takovém poměru, aby faktor UVA-PF byl 1/3 SPF faktoru zjištěného metodou PPD in vivo nebo byl stejný stupeň ochrany prokázán jinou in vitro metodou. Zároveň musí splňovat hodnotu kritické vlnové délky vyšší než 370 nm.

U vzorků č.2 a 3 je akceptovatelná shoda mezi naměřenými hodnotami SPF a UVA-PF metodami in vivo a in vitro. Z níže uvedených grafů je možné vysledovat:

Pro vzorek V2 byl stanoven poměr $UVA-PF/SPF_{in\ vivo} = 32,4\ %$. Absorpční maximum pro oblast UVA bylo naměřeno při vlnové délce 355 nm a použité UVA filtry byly do vlnové délky 340 nm stabilní. Absorpční maximum pro oblast UVB bylo naměřeno při 313 nm a u použitých UVB filtrů byl zaznamenán po expozici nízký rozklad v celé UVB oblasti. Obdobný výsledek byl získán i pro vzorek č.1 a č.7.

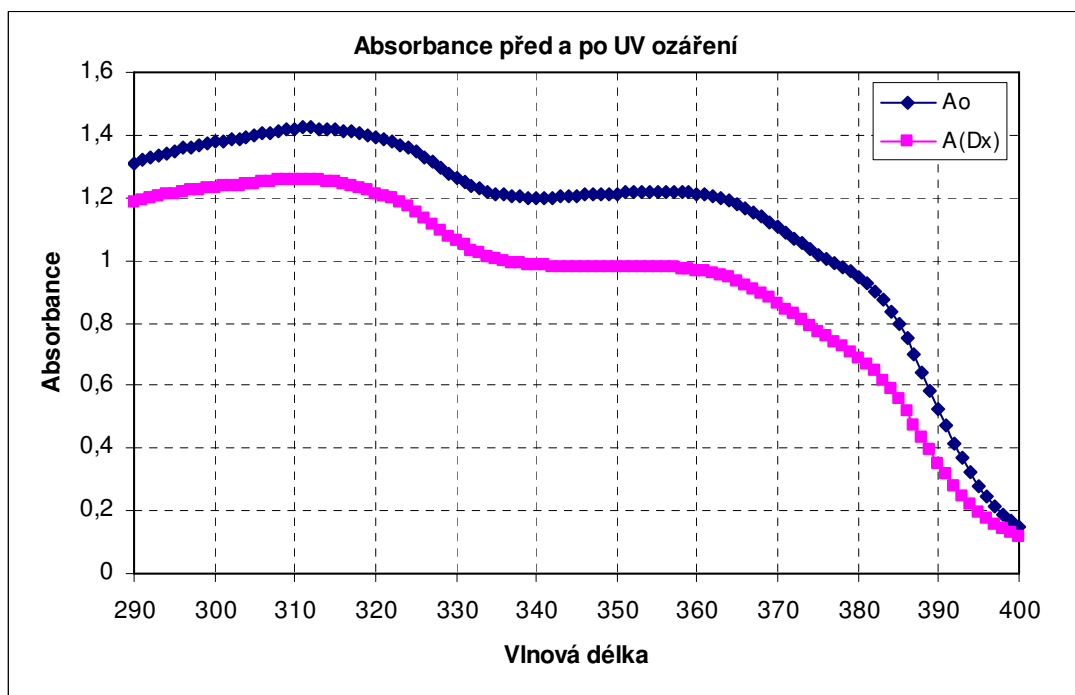


Obr. 13 Hodnoty absorbance před a po ozáření pro vzorek 2

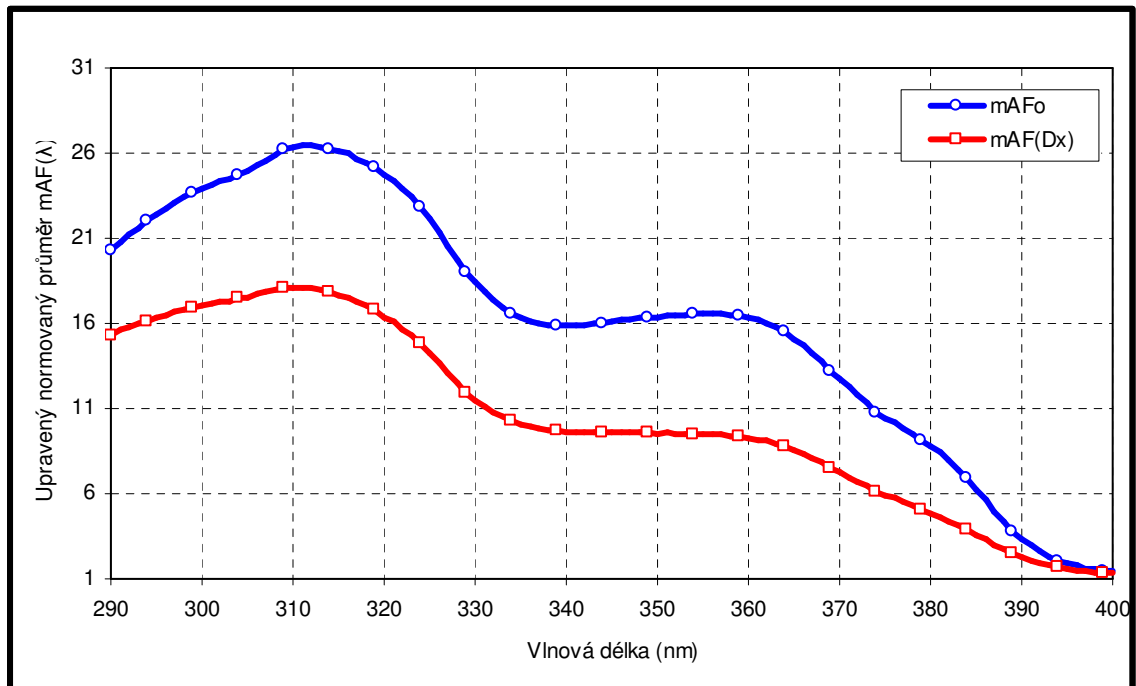


Obr. 14 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 2

Pro vzorek V3 byl stanoven UVA-PF/SPF *in vivo* = 32,8 %. Absorpční maximum pro oblast UVA bylo naměřeno při vlnové délce 360 nm a pro oblast UVB při 313 nm. U použitých UVA a UVB filtrů byl zaznamenán rozklad v celé UV oblasti (290-400 nm).

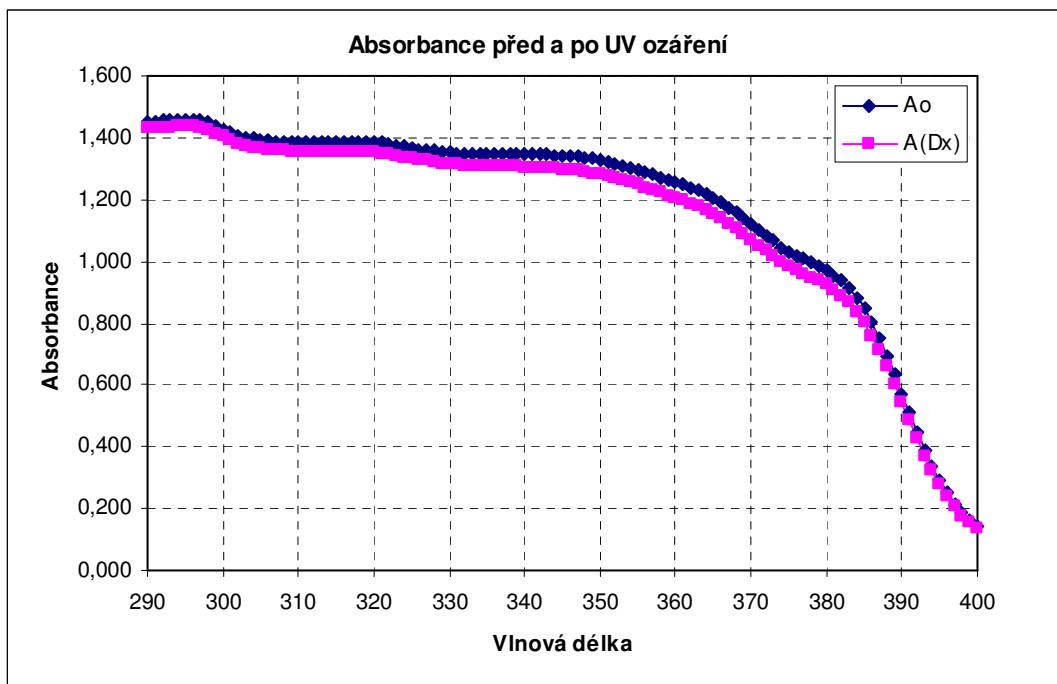


Obr. 15 Hodnoty absorbance před a po ozáření pro vzorek 3

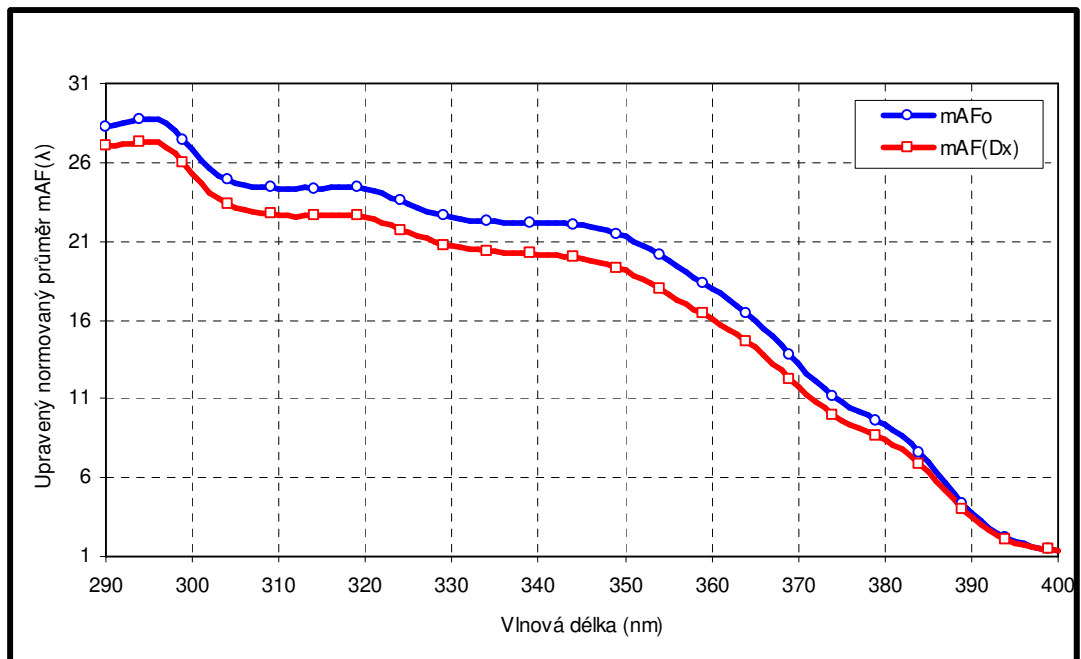


Obr. 16 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 3

Pro vzorek V4 byl stanoven $\text{UVA-PF/SPF}_{\text{in vivo}} = 53,5 \%$. Absorpční maximum pro oblast UVA bylo naměřeno při vlnové délce 345 nm a pro oblast UVB při 320 a 295 nm. U použitých UVA a UVB filtrů byl zaznamenán velmi nízký rozklad v celé UV oblasti (290-400 nm).

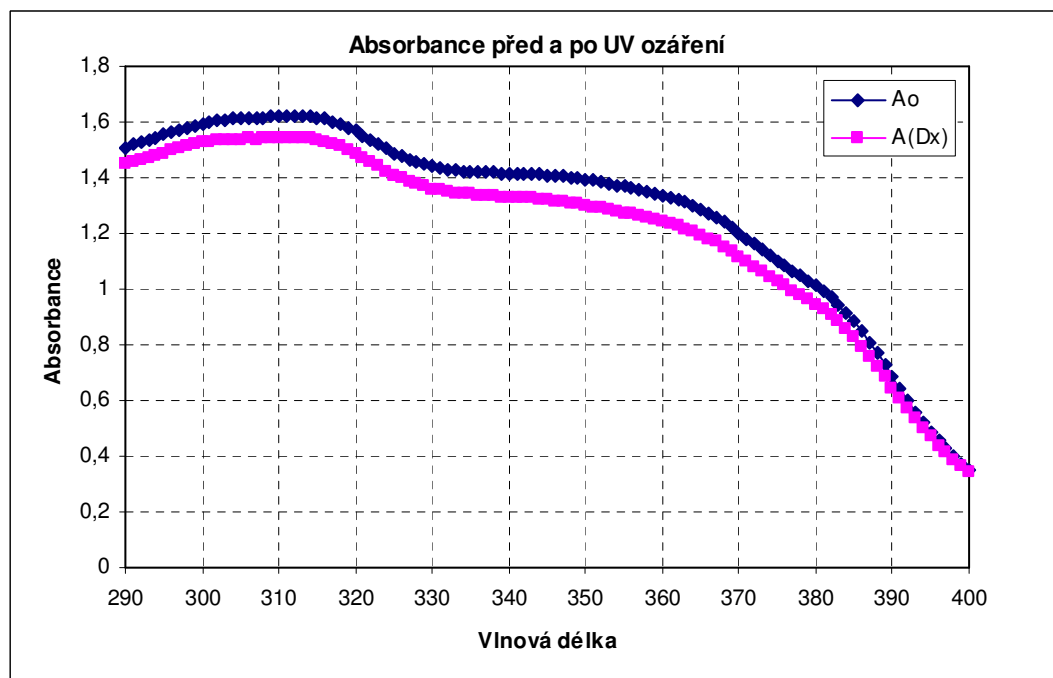


Obr. 17 Hodnoty absorbance před a po ozáření pro vzorek 4

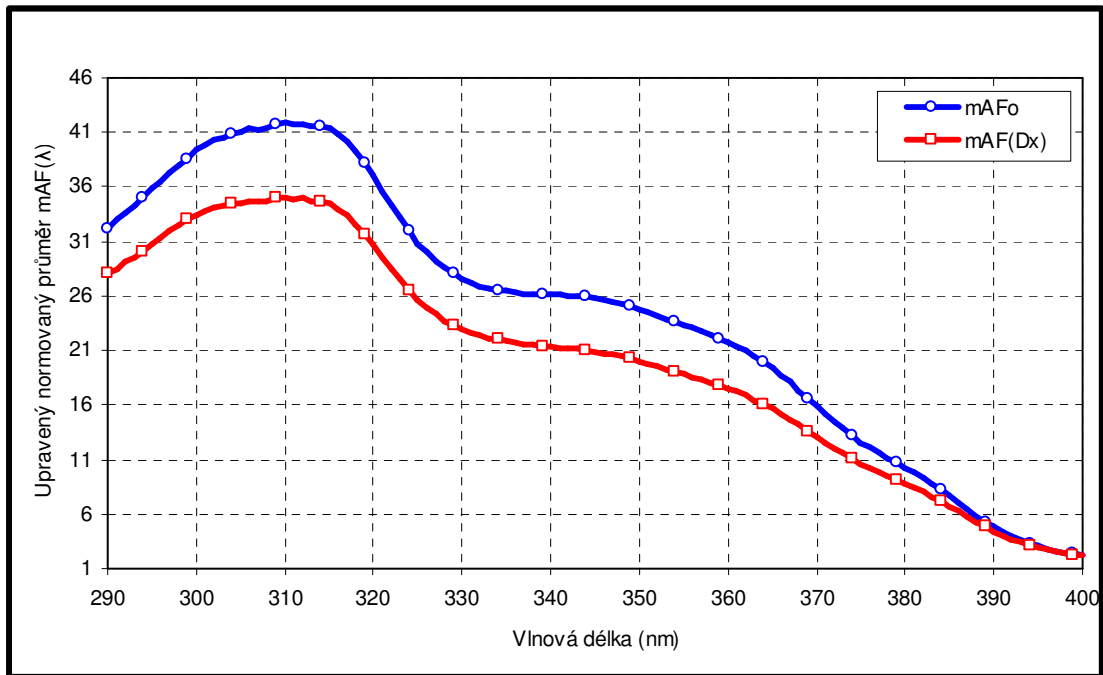


Obr. 18 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 4

Zajímavý byl vzorek V5, který obsahuje pouze oxid titaničitý. Absorpční maxima nejsou významná, jedná se o fyzikální filtr. Přesto lze použitím tohoto UV filtru dosáhnout vysoké ochrany proti UV záření. Byl stanoven $UVA-PF/SPF_{in vivo} = 40,8 \%$ a degradace toho filtru UV expozicí byla minimální. Obdobný průběh křivky absorbance byl zaznamenán u vzorku č. 8.

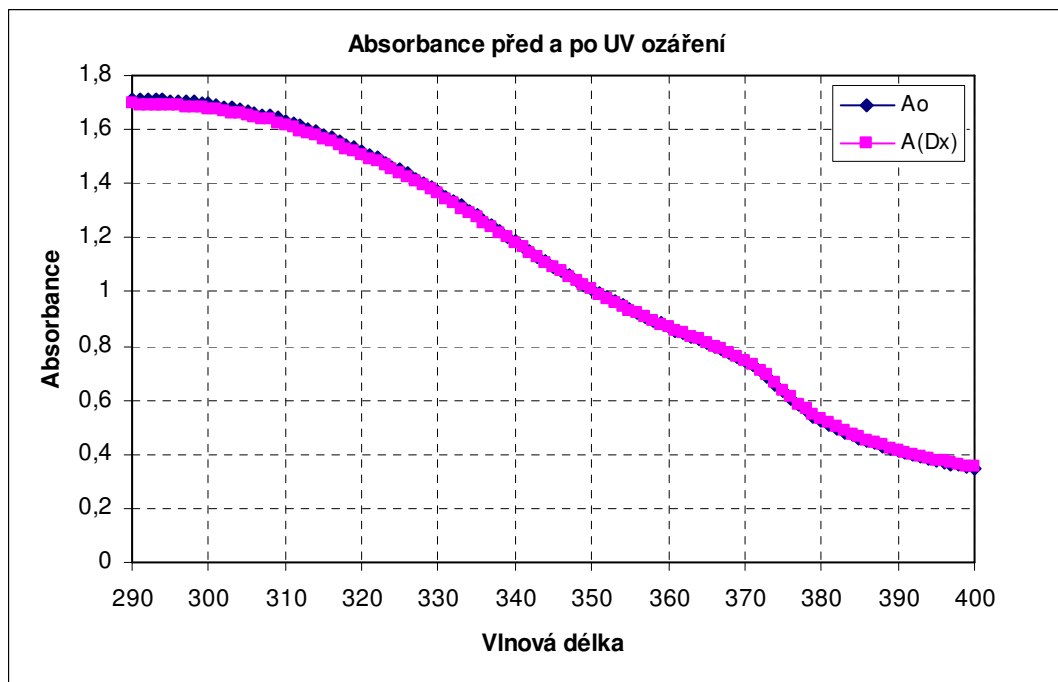


Obr. 19 Hodnoty absorbance před a po ozáření pro vzorek 5

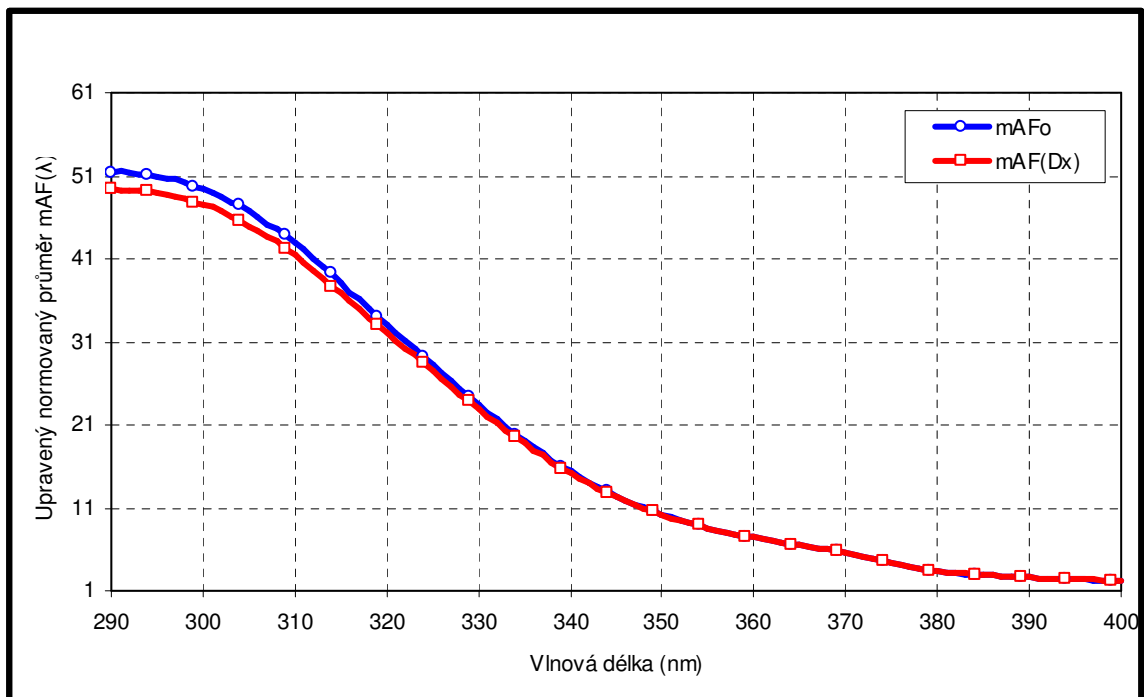


Obr. 20 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 5

Pro vzorek V6 byl stanoven UVA-PF/SPF *in vivo* = 20,8 %, který nespĺňuje požadovaná kritéria na výši poměru UVA-PF/SPF (tj. min. 33%). Z uvedených křivek je patrné, že výrobek poskytuje nízkou ochranu v UVA oblasti, ale UV filtry použité v emulzi jsou fotostabilní. v celé UV oblasti (290-400 nm).



Obr. 21 Hodnoty absorbance před a po ozáření pro vzorek 6



Obr. 22 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 6

ZÁVĚR

Cílem DP bylo ověřit návrh normy ISO/WD 24443 pro stanovení UVA ochrany metodou in vitro a srovnat výsledky získané in vitro s hodnotami naměřenými metodami in vivo.

Výběr vzorků byl volen se záměrem otestovat také formulace, které byly z aplikačního hlediska problematické. Jednalo se buď o emulzi, která byla v aerosolovém balení (vzorek V4), nebo o řídkou emulzi v balení s mechanickým rozprašovačem (vzorek V2).

Jako problematický se při nanášení jevil výrobek ve formě aerosolu, neboť při navažování výrobku bez odtěkání hnacích plynů nebylo možné výrobek přesně navážít a při aplikaci docházelo ke stékání výrobku z destičky. Po odtěkání hnacích plynů došlo pravděpodobně k zakoncentrování emulze a tím i naměření vyšších hodnot metodami in vitro.

K dosažení relevantních a reprodukovatelných výsledků u vzorku V2 bylo nutné dokonalé promíchání vzorku před navažováním. Vzhledem k řídké konzistenci vzorku byl problém i s aplikací. Nicméně hodnoty naměřené metodami in vitro dobře korelují s hodnotami naměřenými metodami in vivo.

Do testování byl zařazen i velmi těžce roztíratelný krém pouze na bázi oxidu titaničitého (vzorek V6). Navažování a aplikace vzorku nebylo vzhledem ke konzistenci výrobku možná obvyklým a doporučeným způsobem a nebylo dosaženo pravidelného a rovnoměrného roztěru.

Výsledku testu potvrzují akceptovatelnou shodu mezi hodnotami stanovenými metodami in vivo a in vitro u nižších faktorů, a to do SPF 20.

Byly hledány možné příčiny. Jednou může být velká časová prodleva mezi měřením vzorků metodou in vivo a in vitro. Aby bylo možné toto tvrdit, musel by být znám obsah použitých UV filtrů v měřených vzorcích před stanovením SPF a UVA-PF metodou in vivo. Analyticky by musel být obsah těchto UV filtrů zkontrolován před měřením těchto vzorků v diplomové práci metodou in vitro.

Další z možností je použitý odlišný simulátor slunečního záření. Pro UV expozici při měření metodou in vivo byl použit jako simulátor slunečního záření Solar Light multiport model 601 -W300, s xenonovou lampou s kontinuálním emisním spektrem.

Pro měření metodou in vitro byl použit solární simulátor SOL 500 od fy Hönle s halogenovou výbojkou. Intenzita záření tímto simulátorem byla 10x nižší, tzn., že časy pro expozici byly 10x delší a mohly mít vliv na rozklad některého z použitých UV filtrů.

V době měření SPF a UVA-PF in vitro nebyl solární simulátor Solar Light, který je předepsaným zdrojem UV záření, k dispozici.

Bylo by zajímavé v této práci pokračovat na nových vzorcích, u kterých by byl stanoveny hodnoty SPF a UVA metodou in vivo a v krátkém časovém úseku by bylo provedeno i měření metodou in vitro. V ideálním případě by bylo dobré znát i % obsah UV filtrů ve formulaci nebo stanovit tyto obsahy analyticky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] LANGMAIER, Ferdinand. *Základy kosmetických výrob.* Vyd. 1. Zlín: 2001. 160 s. ISBN 80-7318-016-2.
- [2] DITRICHOVÁ, D., et al. *Repetitorium dermatovenerologie.* Vyd. 1. Olomouc : Epava, 2002. 304 s. ISBN 80-86297-08-X.
- [3] HORKÝ, D., ČECH, S. *Mikroskopická anatomie.* Brno: MU Brno, 2005. 354 s. ISBN 80-210-3775-X.
- [4] MALINA, L. *Fotodermatózy.* Praha : Maxdorf, 1999. 195 s. ISBN 80-85912-21-X.
- [5] ETTLER, K. *Fotoprotekce kůže : Ochrana kůže před účinky ultrafialového záření.* Praha : Triton, 2004. 132 s. ISBN 80-7254-463-2.
- [6] Kolektiv pracovníků SZÚ. *Http://www.szu.cz/* [online]. [cit. 2010-01-20]. UV záření. Dostupné z WWW: <<http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/koupani-ve-volne-prirode/uv-zareni>>.
- [7] ETTLER, K. Účinky UV záření na kůži a fotoprotekce. *Mezioborové přehledy* [online]. 2007-06-09, 6: 273–275, [cit. 2010-03-18].
- [8] *Velký lékařský slovník On-line* [online]. Maxdorf, 2008 [cit. 2010-03-18]. Dostupné z WWW: <<http://lekarske.slovniky.cz/>>.
- [9] *Http://www.aldebaran.cz/* [online]. 2000 ? [cit. 2010-04-20]. Sluneční soustava: Slunce. Dostupné z WWW: <<http://www.aldebaran.cz/astrofyzika/sunsystem/slunce.html>>.
- [10] Slunce In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, 12. 4. 2010, 12. 4. 2010 [cit. 2010-04-20]. Dostupné z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Slunce>>.
- [11] JIRÁSKOVÁ, M., JIRÁSEK, L. Fotoprotekce. *Přehledové články* [online]. 2008-02-04, 2(2): 63–67, [cit. 2010-03-19].
- [12] Sunscreen In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, 11.3.2010, [cit. 2010-04-20]. Dostupné z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Sunscreen>>.
- [13] *Http://www.daylong.sk/* [online]. 2010 [cit. 2010-03-19]. Fototyp. Dostupné z WWW: <http://www.daylong.sk/vyber_produkту.html>.

- [14] [Http://www.colipa.eu](http://www.colipa.eu) [online]. 2010 ? [cit. 2010-03-19]. COLIPA - The European Cosmetics Association. Dostupné z WWW: <<http://www.colipa.eu/about-colipa-the-european-cosmetic-cosmetics-association.html>>.
- [15] PAYE, M., et al. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, London 2006. ISBN 1-57444-824-2.
- [16] STEINBERG, D. C. *Frequency of use of organic UV filters as reported to the FDA*. *Cosmet Toilet* 2003; 118(10):81–83.
- [17] MURPHY, G. M. *An update on photoprotection*. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2002; 18:1–4.
- [18] SEITE, S., et al. *A full-spectrum absorbing daily use cream protects human skin against biological changes occurring in photoaging*. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2000; 16:147–155.
- [19] SAYRE, R.M., et al. *Physical sunscreens*. *J. Soc. Cosmet Chem* 1990; 41:103–109
- [20] MITCHNICK, M. A., et al. *Microfine zinc oxide (Z-Cote) as a photostable UVA/UVB sunblock agent*. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40:85–90.
- [21] DIFFEY, B. L., *Sources and measurement of ultraviolet radiation*. *Methods*, Volume 28, Issue 1, September 2002, Pages 4-13, ISSN 1046-2023.
- [22] BEGUM, M, et al. *Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation*. *International Journal of Food Mikrobiology*. Volume 129, Issue 1, 31 January 2009, Pages 74-77, ISSN 0168-1605.
- [23] MACDONALD, T. M., et al. *Sensitivity of cyanobacterial antenna, reaction center and CO₂ assimilation transcripts and proteins to moderate UVB: light acclimation potentiates resistance to UVB*, *Photochem. Photobiol.* 77 (2003) 405–412.
- [24] [Http://www.khskv.cz/](http://www.khskv.cz/) [online]. 2010 ? [cit. 2010-04-20]. Slunce a UV záření. Dostupné z WWW: <<http://www.khskv.cz/mereni/zareni.htm>>.
- [25] KIMLIN M.G., *Geographic location and vitamin D synthesis*, *Molecular Aspects of Medicine*, Volume 29, Issue 6, December 2008, Pages 453-461, ISSN 0098-2997.
- [26] JENKINS G., *Molecular mechanisms of skin ageing*, *Mechanisms of Ageing and Development*, Volume 123, Issue 7, The Biology of Ageing, April 2002, Pages 801-810, ISSN 0047-6374.

- [27] ETTLER, K. *Prostředky k ochraně kůže před UV zářením. Aktuální farmakoterapie* [online]. 2010-03-07, 5(3): 135–138, [cit. 2010-04-12].
- [28] JIRÁSKOVÁ, M., JIRÁSEK, L. *Http://www.odbornecasopisy.cz/* [online]. 2010-03-23 [cit. 2010-04-13]. Světlo: Jak chránit kůži proti působení záření?.
- [29] NIEMANN, C., WATT, F. M. *Designer skin: lineage commitment in postnatal epidermi*. Trends in Cell Biology, Volume 12, Issue 4, 1 April 2002, Pages 185-192, ISSN 0962-8924.
- [30] *Http://www.vivierskin.com/* [online]. 2008 ? [cit. 2010-01-06]. Skin and dermis. Dostupné z WWW: <http://www.vivierskin.com/delivery_system/index.php>.
- [31] COLIPA, *Method for in vitro determination of UVA protection*, 2009. Guideline, June 2009, (COLIPA - The European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association; CTFA-SA - Cosmetic, Toiletry & Fragrance Association of South Africa; JCIA - Japan Cosmetic Industry Association).
- [32] *Http://www.brookscole.com* [online]. [cit. 2010-04-29]. Cengage Learning. Dostupné z WWW: <http://www.brookscole.com/chemistry_d/templates/student_resources/shared_resources/molecular_modeling/chime/polymethylmethacrylate.html>.
- [33] *Http://themedicalbiochemistrypage.org/* [online]. 2010 [cit. 2010-04-29]. THE Medical Biochemistry Page. Dostupné z WWW: <<http://themedicalbiochemistrypage.org/vitamins.html>>.
- [34] Helioplate© hd Substrate for Absorption Measurement, Helioscreen labs, 2008.
- [35] DIFFEY, B.L., ROBSON, J. *A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum*. J. Soc. Cosmet. Chem., 40 (1989) 127-133.
- [36] UVA In Vitro Method – Technical Q&A . 2008-07-09 [online]. [cit. 2010-05-03]. Dostupný z WWW: <www.colipa.eu/downloads/35.html>.
- [37] FITZPATRICK, T., B., (1988). *The validity and practicability of sun-reactive skin types I through VI*. Archives Dermatol. 120, 869-871.
- [38] HAYWOOD, R., WARDMAN, P., SANDERS, R., LIGNE, C., (2003). *Sunscreens Inadequately Protect Against Ultraviolet-A-Induced Free Radicals in Skin: Implication for Skin Aging and Melanoma*. J.Incest.Dermatos. 121, 862-868.

- [39] EK, (2006). Doporučení Komise 2006/647/ES o účinnosti prostředků na ochranu proti slunečnímu záření a o uváděných tvrzeních, která s nimi souvisí. Úřední věstník Evropské unie.
- [40] SOEBORG T., et al. *Distribution of the UV filter 3-benzylidene camphor in rat following topical application*, Journal of Chromatography B, Volume 834, Issues 1-2, 13 April 2006, Pages 117-121, ISSN 1570-0232.
- [41] CAROU, M.E., et al. *Impact of the UV-B filter 4-(Methylbenzylidene)-camphor (4-MBC) during prenatal development in the neuroendocrine regulation of gonadal axis in male and female adult rats*, Environmental Toxicology and Pharmacology, Volume 27, Issue 3, May 2009, Pages 410-414, ISSN 1382-6689.
- [42] VIRACHUNYA, P., PINVISES, A. *Effectiveness of Nivea Sunscreen under Ultra-violet Light*, Journal of Physics, January 2008. Dostupné z: <http://www.isb.ac.th/HS/JoP/vol2iss1/Papers/Sunscreen.pdf>.
- [43] EK, (2006). Doporučení Komise 2006/647/ES o účinnosti prostředků na ochranu proti slunečnímu záření a o uváděných tvrzeních, která s nimi souvisí. Úřední věstník Evropské unie. COLIPA, (2006). International Sun Protection Factor (SPF) Test Method (COLIPA - The European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association; CTFA-SA - Cosmetic, Toiletry & Fragrance Association of South Africa; JCIA - Japan Cosmetic Industry Association).
- [44] COLIPA, CTFA-SA, JCIA. International Sun Protection Factor (SPF) Test Method, 2006.
- [45] HONSOVÁ, D., *Příroda.cz* [online]. 31. května 2006 [cit. 2010-05-16]. Ozon a UV-Index. Dostupné z WWW: <<http://www.priroda.cz/clanky.php?detail=646>>.
- [46] Vyhláška MZ ČR č.448/2009 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky.
- [47] ISO. ISO/WD 24443 Determination of Sunscreen UVA Photoprotection In vitro. ISO Draft #2, July, 2008.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

A_λ	Průměrná monochromatická absorpce.
A_0	Střední monochromatická absorbance v testované vrstvě vzorku před UV expozicí.
COLIPA	European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association.
C_o	Korekční koeficient, určený k úpravě vypočtené hodnoty <i>in vitro</i> SPF k hodnotě stanovené metodou <i>in vivo</i> .
CV%	Koeficient variability, vyjadřující rovnoměrnost naneseného vzorku na destičce.
D	Velikost dávky nutná k ozáření vzorku.
D_0	Hodnota D_0 byla optimalizována podle celého souboru dat z kruhového testu prováděného Colipou a stanovena jako $1,2 \text{ J.cm}^{-2} \text{ UVA}$.
DNA	Deoxyribonukleová kyselina.
$E(\lambda)$	Spektrum působení pro erytém.
EU	Evropská unie.
$I(\lambda)$	Spektrální záření pro SPF nebo PPD testování.
IPD	Časné pigmentační ztmavnutí (immediate pigment darkening).
IR	Infračervené záření.
mAF	Naměřené hodnoty transmitance.
MED	Minimální erytémová dávka.
$P(\lambda)$	Spektrum působení pro PPD.
PMMA	Polymethylmethacrylate.
PPD	Pozdní pigmentace (persistent pigment darkening).
RNA	Ribonukleová kyselina.
SPF	Ochranný faktor před slunečním zářením.
$\text{SPF}_{in vitro}$	<i>In vitro</i> ochranný sluneční faktor.

T_λ	Frakce záření, které projde nanosenou vrstvou opalovacího přípravku.
TiO_2	Oxid titaničitý.
UV	Ultrafialové záření.
UVA	Ultrafialové záření působící v oblasti 320-400 nm.
UVA-PF	Ochranný faktor proti UVA složce záření.
UVA-PF ₀	In vitro UVA ochranný faktor před expozicí UV zářením.
UVB	Ultrafialové záření působící v oblasti 290-320 nm.
UVC	Ultrafialové záření působící v oblasti 200-290 nm.
VR	Viditelné záření.
λ_c	Kritická vlnová délka.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Řez kůží [30]	13
Obr. 2 Schéma epidermis [2]	15
Obr. 3 Typy záření [42].....	19
Obr. 4 Průnik UV záření do kůže [27].....	20
Obr. 5 Penetrace záření do kůže [27].....	20
Obr. 6 Vzorec: 7-dehydrocholesterol [33]	23
Obr. 7 Poškození kůže po nadměrném slunění [5]	23
Obr. 8 Polymethylmethacrylate [32].....	39
Obr. 9 Postup při roztírání glycerinu i vzorku [34]	40
Obr. 10 Srovnání hodnot SPF	48
Obr. 11 Srovnání hodnot UVA	48
Obr. 12 Graf znázorňující poměr UVA/UVB před a po ozáření	50
Obr. 13 Hodnoty absorpance před a po ozáření pro vzorek 2.....	51
Obr. 14 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 2	52
Obr. 15 Hodnoty absorpance před a po ozáření pro vzorek 3.....	52
Obr. 16 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 3	53
Obr. 17 Hodnoty absorpance před a po ozáření pro vzorek 4.....	53
Obr. 18 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 4	54
Obr. 19 Hodnoty absorpance před a po ozáření pro vzorek 5.....	54
Obr. 20 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 5	55
Obr. 21 Hodnoty absorpance před a po ozáření pro vzorek 6.....	55

Obr. 22 Upravený průměr (10 hodnot) mAF, před a po vystavení UV záření pro vzorek 6
..... 56

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Přehled fototypů [37]	25
Tab. 2 Hodnoty slunečního ochranného faktoru (SPF) doporučené pro jednotlivé fototypy kůže při prvním opalování [11]	26
Tab. 3 Kategorie prostředků na ochranu proti slunečnímu záření včetně ochranných slunečních faktorů [39]	32
Tab. 4 Charakteristika vybraných vzorků	37
Tab. 5 Obsah UV filtrů v jednotlivých vzorcích a jejich začlení dle oblasti působení.....	38
Tab. 6 Specifikace zdroje světla měřená spektrometricky.....	42
Tab. 7 Vybrané vzorky a naměřené hodnoty I	47
Tab. 8 Vybrané vzorky a naměřené hodnoty II.....	49
Tab. 9 Doba ozáření (v hod.)	50

SEZNAM PŘÍLOH

P I Použité UV filtry

P II Chemické struktury UV filtrů

PŘÍLOHA P I: POUŽITÉ UV FILTRY

Ref. číslo	Látka	Maximální povolená koncentrace	Podmínky použití a varování, která musí být vytištěna na obalu Zkratka INCI name
a	b	c	e
1	3,3,5-Trimethylcyklohexyl- salicylát CAS [118-56-9]	10 %	Homosalate UVB
2	2-Hydroxy-4-methoxybenzo-fenon; 2-benzoyl-5-methoxyfenol Oxybenzon CAS [131-57-7]	10 %	Obs. Oxybenzon BP3 Benzophenone-3 UVA/UVB
3	Kyselina 2-fenylbenzimidazol-5-sulfonová; / 2-Phenylbenzimidazole-5-sulphonic acid/ a její draselné /potassium/, sodné /sodium/ a triethanolaminové / triethanolamine/ soli CAS [27503-81-7]	8 % v přepočtu na kyselinu	PBSA Phenylbenzimidazole Sul- fonic Acid UVB
4	3,3´-(1,4-Fenylendi-methylen)bis(7,7-dimethyl-2-oxobicyklo-[2,2,1]heptan-1-methansulfonová kyselina); /3,3´-(1,4-Phenylendi-methylene) bis(7,7-dimethyl-2-oxo-bicyclo-[2,2,1]hept-1-ylmethanesulphonic acid)/ a její soli	10 % v přepočtu na kyselinu	TDSA Terephtalidene Dicam- phor Sulfonic Acid UVA
5	1-(4-terc-Butylfenyl)-3-(4-methoxyfenyl)propan -1,3-dion /1-(4-Tert-butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propane-1,3-ione/ CAS [70356-09-1]	5 %	BMDBM Butyl Methoxy- dibenzoylmethane UVA
6	2-Ethylhexyl-(2-kyan-3,3-difenylylakrylát) /2-Cyano-3,3-diphenyl acrylic acid, 2-ethylhexyl ester (Octocrylene)/ CAS [61-97-7]	10% v přepočtu na kyselinu	OCR Octocrylene UVB
7	Oktyl-3-(methoxyfenyl)prope-noát /Octyl methoxycinnamate/ CAS [5466-77-3]	10%	EHMC (OMC) Octyl Methoxycinnamate UVB
8	N ² ,N ⁴ ,N ⁶ -Tris[4-(2-ethylhexyloxy)fenyl]-1,3,5-triazin-2,4,6-triamin/ 2,4,6-Trianiino-(p-carbo-2´-ethylhexyl-1´-oxy)-1,3,5-triazine (Octyl Triazone)/ CAS [88122-99-0]	5%	OT Octyl Triazone UVB

Ref. číslo	Látka	Maximální povolená koncentrace	Podmínky použití a varování, která musí být vytištěna na obalu Zkratka INCI name
9	2-(2 <i>H</i> -Benzotriazol-2-yl)-6-{{[3-(1,1,1,3,5,5,5-heptamethyltrisiloxan-3-yl)-2-methylpropyl]-4-methylfenol /Phenol,2-(2 <i>H</i> -benzotriazol-2-yl)-4-methyl-6-(2-methyl-3-(1,3,3,3-tetramethyl-1-(trimethylsilyl)oxy)-disiloxanyl)propyl} (Drometrizole Trisiloxane)/ CAS [155633-54-8]	15%	DTS UVB/UVA
10	2-Ethylhexyl-salicylát /2-Ethylhexyl salicylate/ 2-ethylhexyl-2-hydroxy-benzoát /(Octyl-salicylate)/ CAS [118-605]	5%	Octyl Salicylate UVB
11	2,2'-Methylenbis[6-(2 <i>H</i> -benzotriazol-2-yl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)fenol] /2,2'-Methylene-bis-6-(2 <i>H</i> -benzotriazol-2-yl)-4-(tetra-methylbutyl)-1,1,3,3-phenol/ CAS [103597-45-1]	10%	MBBT Methylen bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol UVA/UVB
12	2,4-Bis[4-(2-ethylhexyloxy)-2-hydroxyfenyl]-6-(4-methoxyfenyl)-1,3,5-triazin / (1,3,5)-Triazine-2,4-bis((4-(2-ethylhexyloxy)-2-hydroxy)-phenyl)-6-(4-methoxyphenyl)/ CAS [187393-006]	10%	BEMT Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyltriazin UVA/UVB
13	Oxid titaničitý, CI 77891/ Titanium dioxide/ CAS [13463-67-7]	25%	TiO₂ UVA/UVB
14	hexyl-2-[4-(diethylamino)-2-hydroxybenzoyl]benzoát CAS [302776-68-7]	10 % v prostředcích ke slunění	DHHB Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate UVA

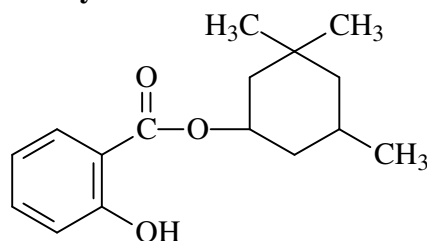
PŘÍLOHA P II: CHEMICKÉ STRUKTURY UV FILTRŮ

Ref. Číslo 1

HMS

Monomenthyl salicyláte

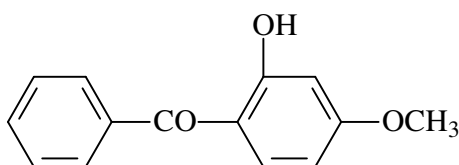
Noe Heliopan HMS, Eusolex



Ref. Číslo 2

B3

Uvinul M40



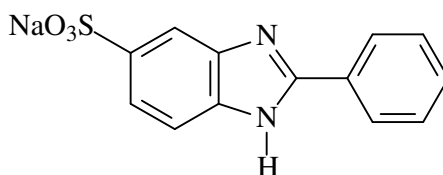
Ref. Číslo 3

PBSA

PhenylBenzimidazol Sulfonic Acid

Eusolex 232

(Merck)

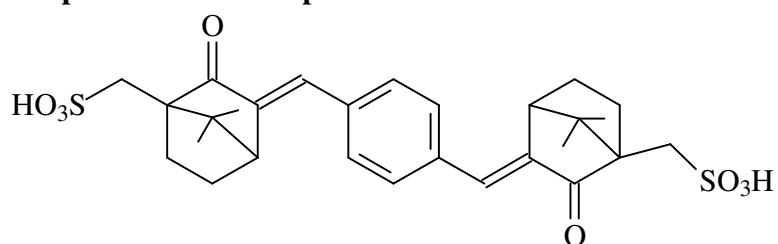


Ref. Číslo 4

TDSA

Terephtalidene Dicumphor Sulfonic Acid

Mexoryl SX

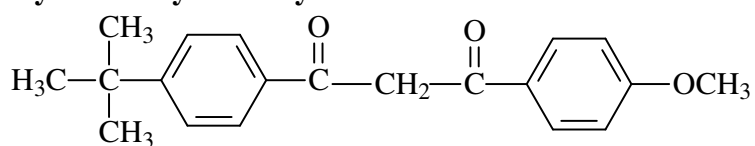


Ref. Číslo 5

BMBM

Butyl Methoxydibenzoylmethane

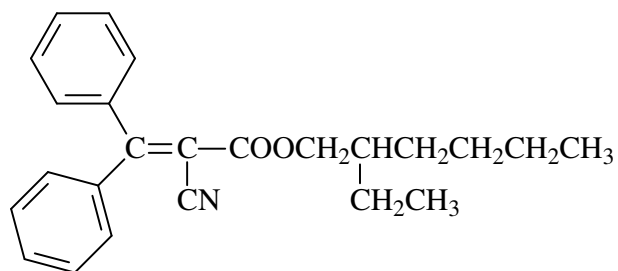
Parsol 1789



Ref. Číslo 6
OCR

Octocrylene

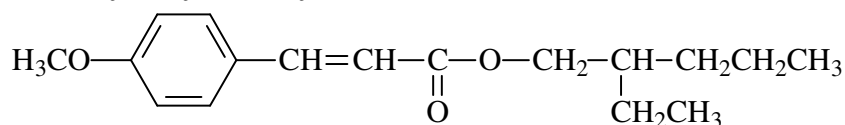
Neo Heliopan 303



Ref. Číslo 7

EHMC, OMC Ethylhexyl metoxycinamát

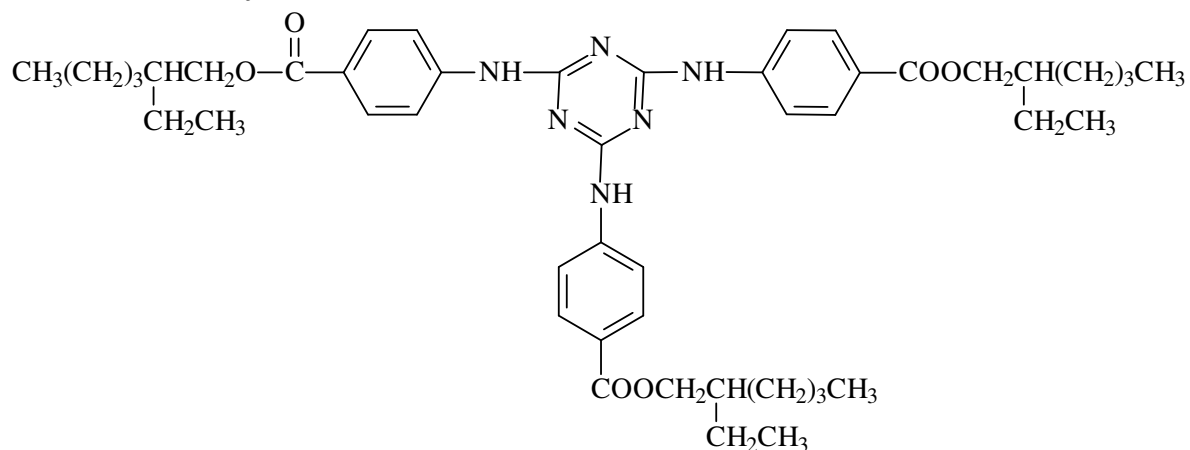
Parsol MCX



Ref. Číslo 8

EHT, OT Octyl Triazone

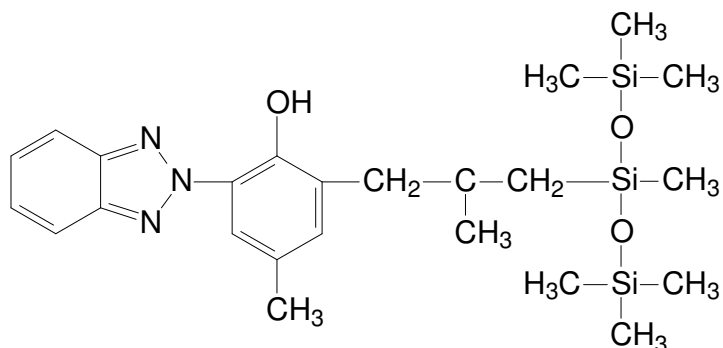
Uvinul T 150 (BASF)



Ref. Číslo 9
DTS

Drometrizole trisiloxane

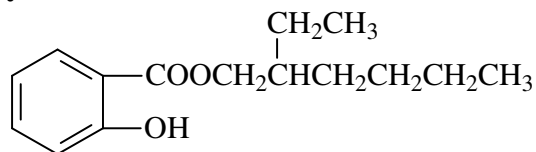
Mexoryl XL



Ref. Číslo 10

OS octyl salicyláte

Neo Heliopan OS, Escalol 587

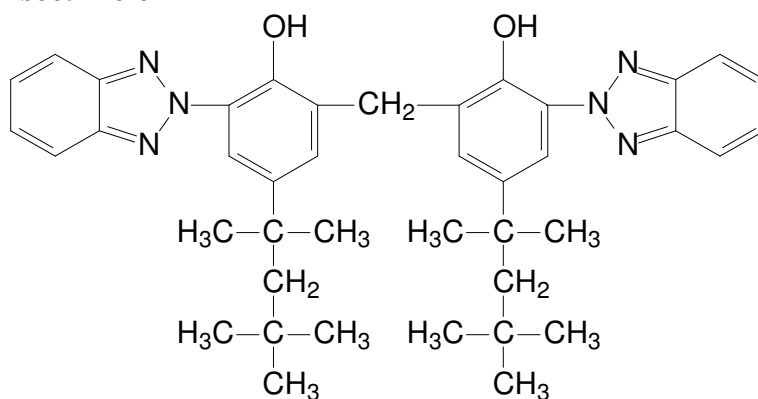


Ref. Číslo 11

MBBT

Bisotrizole

Tinosorb M (Ciba)

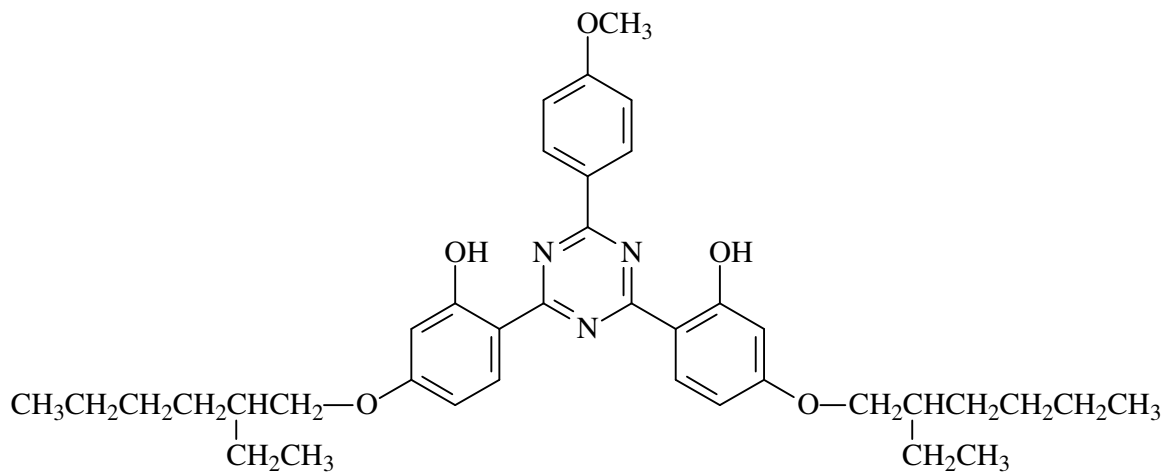


Ref. Číslo 12

BEMT

Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine, Bemotrizinol

Tinosorb S



Ref. Číslo 13

TiO₂

oxid titaničitý

Eusolex T2000

Ref. Číslo 14

DHHB

Uvinul A Plus

