

Iritace kůže – iritační potenciál látek používaných v kosmetice

Lucie Masaříková

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Lucie Masaříková
Osobní číslo:	T24605
Studijní program:	B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace:	Biomateriály a kosmetika
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Iritace kůže – iritační potenciál látek používaných v kosmetice

Zásady pro vypracování

V této práci studentka představí skladbu lidské kůže, popíše princip iritace, dále definuje látky s iritačním potenciálem a jejich možné využití v kosmetických produktech. Dále bude provedeno kritické zhodnocení metod využívaných ke stanovení iritačního potenciálu, které jsou povoleny legislativou Evropské unie.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] URBANO SALVADOR, Amparo a Alberto CHISVERT, ed. *Analysis of cosmetic products*. Second edition. Amsterdam Oxford Cambridge, MA: Elsevier, 2018. ISBN 978-0-444-63508-2.
- [2] ROSEN, Meyer R. a Charles F. WARREN, ed. *Art and science of formulating cosmetic products*. New York: Chemical Publishing Company, 2016. *Harry's cosmeticology: focus books*. ISBN 978-0-8206-0199-1.
- [3] CAPES-DAVIS, Amanda, Amanda CAPES-DAVIS a R. Ian FRESHNEY. *Freshney's culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications*. Eighth edition. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2021. ISBN 978-1-119-51304-9.
- [4] DUARTE, Ida, Jéssica Eleonora P. S. SILVEIRA, Mariana De Figueiredo Silva HAFNER, Raquel TOYOTA a Debora Midori M. PEDROSO. Sensitive skin: review of an ascending concept. *Anais Brasileiros de Dermatologia* [online]. 2017, 92(4), 521–525. ISSN 0365-0596. Dostupné z: doi:10.1590/abd1806-4841.201756111

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Hana Doudová**
Centrum polymerních systémů

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Kůže, největší orgán lidského těla, hraje klíčovou roli při ochraně organismu před vnějšími vlivy a při regulaci hydratace a teploty. Tato bakalářská práce se zaměřuje na analýzu iritačního potenciálu povrchově aktivních látek (PAL), které jsou běžnou součástí kosmetických přípravků, a na pochopení mechanismů jejich působení na pokožku. Pozornost je věnována látkám s nižším iritačním potenciálem, jako jsou neiontové a amfoterní tensidy, a jejich přínosu pro formulaci šetrnějších kosmetických produktů. Poukazuje na důležitost moderních metod hodnocení dráždivosti, které využívají *in vitro* testy na buněčných kulturách nebo rekonstituované lidské epidermis. Tyto metody nejen zlepšují přesnost hodnocení, ale zároveň minimalizují nutnost testování na zvířatech. Cílem práce bylo navrhnout strategie ke snížení iritačního potenciálu látek, jako je kombinace šetrných tensidů nebo snižování koncentrace agresivních složek.

Práce přináší důležité poznatky pro vývoj kosmetických produktů, které zajistí vyšší bezpečnost a snášenlivost u uživatelů. Tyto poznatky mohou přispět k lepší ochraně pokožky a k rozvoji inovativních formulací, které budou respektovat nejen zdraví uživatelů, ale i environmentální a etické aspekty výroby kosmetiky.

Klíčová slova: kožní bariéra, povrchově aktivní látky, iritace

ABSTRACT

The skin, the largest organ of the human body, plays a key role in protecting the body from external influences and in regulating hydration and temperature. This bachelor thesis focuses on the analysis of the irritation potential of surfactants (PALs), which are common ingredients in cosmetic products, and on understanding their mechanisms of action on the skin. Attention is given to substances with lower irritation potential, such as non-ionic and amphoteric tensides, and their contribution to the formulation of more environmentally friendly cosmetic products. It highlights the importance of modern methods of irritancy assessment using *in vitro* assays on cell cultures or reconstituted human epidermis. These methods not only improve the accuracy of the assessment but also minimise the need for animal testing. The aim of this work was to propose strategies to reduce the irritant potential of substances, such as combining gentle tensides or reducing the concentration of aggressive ingredients.

The work provides important insights for the development of cosmetic products that will ensure greater safety and tolerability for users. This knowledge can contribute to better skin protection and to the development of innovative formulations that respect not only the health of users but also the environmental and ethical aspects of cosmetic production.

Keywords: skin barrier, surfactants, irritation

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST.....	12
1 KŮŽE.....	13
1.1 ANATOMIE KŮŽE	13
1.1.1 <i>Epidermis</i>	15
1.1.2 <i>Dermis</i>	17
1.1.3 <i>Hypodermis</i>	17
1.1.4 Kožní adnexa.....	18
2 FUNKCE KŮŽE.....	19
2.1 BARIÉROVÁ FUNKCE POKOŽKY	19
2.2 TVORBA KOŽNÍ BARIÉRY	20
3 IRITACE KŮŽE.....	22
4 TESTY.....	25
4.1 EPIKUTANNÍ TESTY (ET)	27
4.1.1 Indikace a kontraindikace k epikutanním	27
4.1.2 Testovací materiál	28
4.1.3 Uzavřený ET	28
4.2 ZEINŮV TEST	29
4.3 TESTOVÁNÍ IRITACE NA MODELECH REKONSTITUOVANÉ LIDSKÉ EPIDERMIS	30
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	37
SEZNAM OBRÁZKŮ	43
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	44

ÚVOD

Lidská kůže je složitý a vysoce adaptabilní orgán, který chrání organismus před vnějšími vlivy, zajišťuje udržení vnitřní homeostázy a umožňuje kontakt se zevním prostředím. Její stav a integrita jsou ovlivňovány řadou faktorů – nejen fyziologických, ale také chemických a environmentálních. V dnešní době, kdy kosmetické produkty představují běžnou součást každodenní hygieny i péče o vzhled, se zvyšuje význam hodnocení jejich bezpečnosti.

I když většina kosmetických přípravků má za cíl podporovat zdraví a vzhled pokožky, některé jejich složky mohou vyvolávat nežádoucí kožní reakce, mezi které patří zejména iritace.

Iritace kůže je reverzibilní zánětlivá odpověď vyvolaná přímým kontaktem s chemickou látkou, která může narušit ochrannou bariéru epidermis, způsobit zarudnutí, otok či svědění. V horších případech může opakovaná expozice vést k rozvoji chronických dermatitid, čímž se kosmetika stává nejen estetickým, ale i zdravotním tématem. Vzhledem k rozmanitosti používaných látek a individuální citlivosti uživatelů je nezbytné znát mechanismy působení těchto látek a umět predikovat jejich potenciální riziko.

Tato bakalářská práce se zaměřuje na hodnocení iritačního potenciálu látek běžně využívaných v kosmetice a na přehled metod, kterými lze tento potenciál určit. Práce zahrnuje jak tradiční přístupy, například epikutánní testy, tak moderní *in vitro* metody využívající lidské buněčné kultury či modely rekonstituované epidermis. Součástí je také diskuse o etických, legislativních a praktických aspektech nahrazování testování na zvířatech alternativními přístupy.

Cílem práce je shrnout dostupné poznatky o testování iritace, poukázat na rozdíly mezi jednotlivými metodami a představit možnosti, jak snížit riziko podráždění kůže u konečných produktů. Práce tak přispívá k hlubšímu porozumění bezpečnosti kosmetických přípravků a podporuje vývoj šetrnějších a vědecky ověřených postupů při jejich formulaci i testování.

I TEORETICKÁ ČÁST

1 KŮŽE

Kůže představuje komplexní multifunkční orgán, který plní roli primární bariéry mezi organismem a okolním prostředím. Zajišťuje ochranu těla před fyzikálními, chemickými a biologickými hrozbami, jako jsou mikroorganismy nebo škodlivé záření, což umožňuje přežití i v měnících se podmínkách. Kromě toho hraje klíčovou roli v termoregulaci, homeostáze tělesných tekutin a senzorických procesech, které jsou zásadní pro orientaci a interakci organismu s okolím [1].

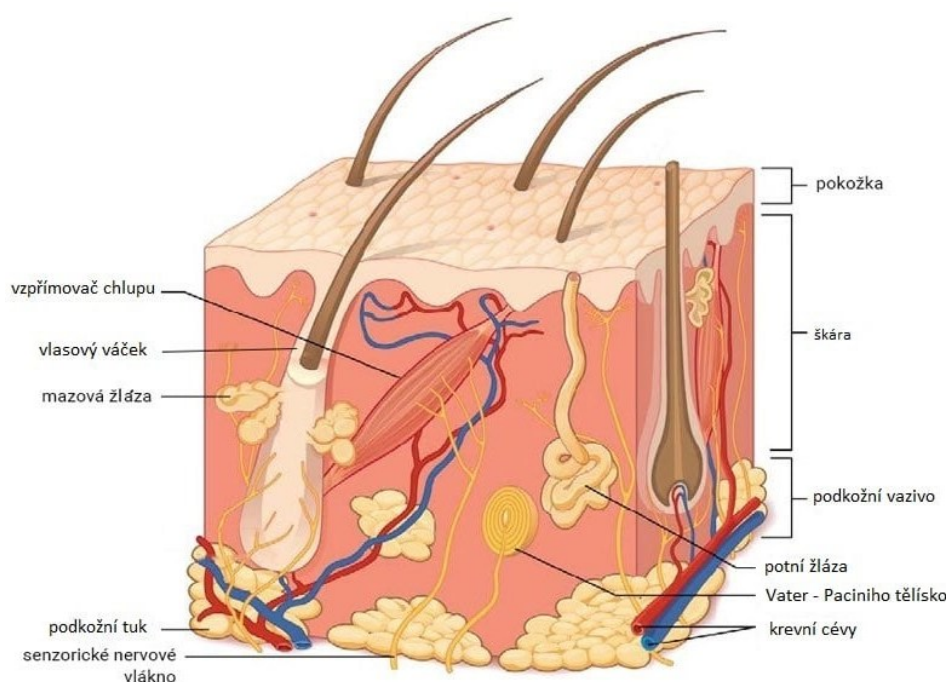
Kromě fyziologických funkcí se kůže vyznačuje složitým mikroprostředím, kde důležitou roli hraje hladina kyslíku. Standardní kultivační postupy pro kožní buňky využívají atmosférické hladiny kyslíku, které však neodpovídají skutečným fyziologickým podmínkám v různých vrstvách kůže. Takové nastavení může vést ke zvýšené produkci volných radikálů, což negativně ovlivňuje buněčné procesy a může urychlovat stárnutí kůže. Fyziologické modely, které lépe napodobují přirozené hladiny kyslíku, umožňují detailnější studium metabolických funkcí kožních buněk a mohou přispět k vývoji efektivnějších terapeutických postupů [2].

Významnou součástí kůže je její mikrobiom – rozmanitá komunita mikroorganismů zahrnující bakterie, viry, houby a roztoče. Tito mikrobi hrají zásadní roli při udržování homeostázy kůže, kde pomáhají vytvářet rovnovážné prostředí a podporují její imunitní obranu proti patogenům. Moderní výzkumy, zejména ty založené na *in vitro* studiích, odhalují komplexitu interakcí mezi hostitelem a jeho mikrobiálním prostředím, což naznačuje možnosti pro vývoj nových terapeutických strategií založených na modulaci mikrobiomu [3].

1.1 ANATOMIE KŮŽE

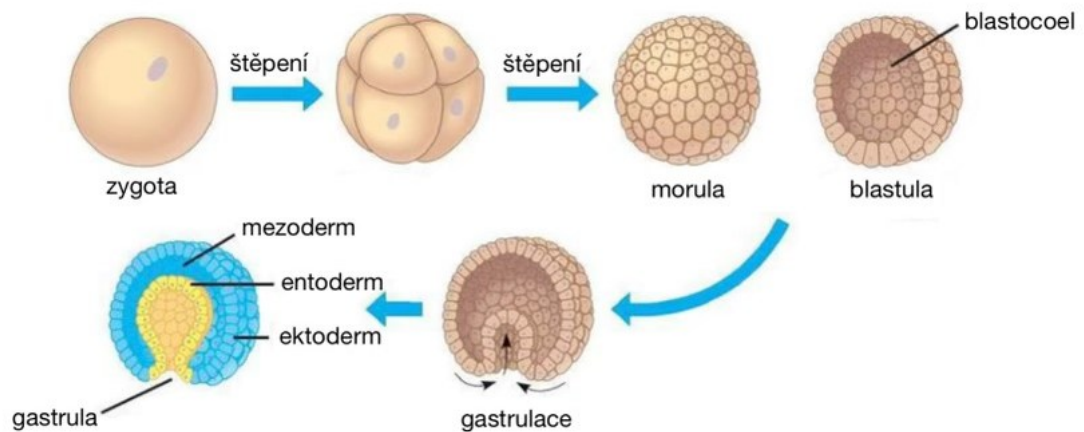
Kůže je největší orgán lidského těla s plochou dosahující 1,5 – 2 m², který tvoří 5-9 % tělesné hmotnosti [4]. Představuje bariéru mezi vnějším a vnitřním prostředím. Tloušťka kůže se pohybuje v rozmezí od 0,1 do 4 mm. Je ovlivněna mnoha faktory, mezi které patří pohlaví, věk, výživa a konkrétní umístění na lidském těle. Barva kůže je závislá na její tloušťce, míře prokrvení a obsahu pigmentu (melaninu) [5].

Kůže se skládá ze tří základních vrstev, které se dále dělí na další dílčí celky. Nejsvrchnější vrstva se nazývá *epidermis*, pod ní se nachází *dermis* a podkožní vazivo [4]. Stavbu kůže lze vidět na obrázku číslo 1.



Obrázek 1 Příčný průřez kůže s jednotlivými vrstvami: Pokožka, škára a podkožní vazivo „upraveno z [6]“

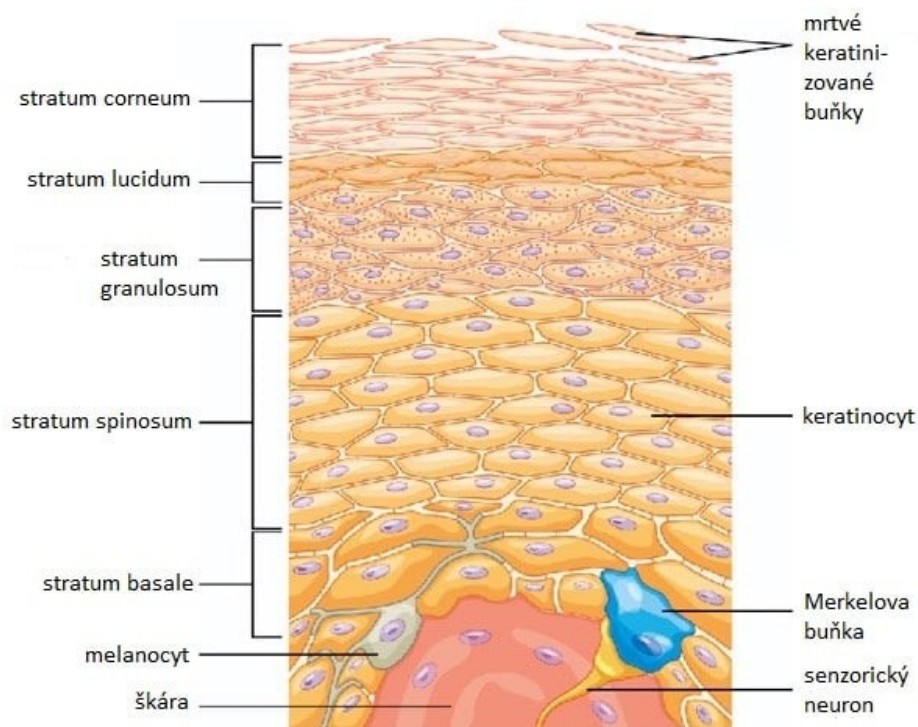
Kůže, jakožto jeden z nejvýznamnějších orgánů těla, má svůj původ již v raných stádiích vývoje organismu. Její zárodečné vrstvy se formují během procesu embryogeneze, kdy dochází k postupnému vývoji struktury těla. Samotné zárodečné vrstvy jsou buněčné útvary, jež vznikají v průběhu ontogeneze, tedy procesu individuálního vývoje organismu od oplození až po dospělost, a vznikají v důsledku rýhování zygoty, což je rané dělení oplozeného vajíčka na menší buňky (obrázek 2) [7]. Zárodečná vrstva zahrnuje tři hlavní skupiny buněk označované jako entoderm, ektoderm a mezoderm. Vnitřní zárodečný list, nazývaný entoderm, je místem, kde se vytvářejí orgány vnitřních soustav, jako je trávicí systém včetně trávicích žláz, dýchací systém a části močového systému. Tento zárodečný list vzniká migrací buněk do vnitřního prostoru gastruly, což je rané stádium embryonálního vývoje charakteristické vytvořením zárodečných vrstev [5]. Zpočátku se entoderm skládá ze zploštělých buněk, ty se však následně řadí do sloupců. Z vnějšího zárodečného listu se vyvíjejí struktury vnějšího povrchu těla, jako je kůže, nervový systém (včetně mozku a míchy) a smyslové orgány. Všechny zbylé tkáně, včetně kostí, svalů, cév a reprodukčního systému, se vyvíjí z mezodermu [7, 8].



Obrázek 2 Vznik gastruly „upraveno z [9]“

1.1.1 *Epidermis*

Epidermis, neboli pokožka, je svrchní vrstvou kůže. Je tvořena tenkým vícevrstevným epitelem dlaždicovitých buněk, které jsou uspořádány těsně nad sebou [4, 10]. Pokožka se skládá z několika vrstev, což můžeme vidět na obrázku číslo 3. Spodní vrstva bazální, *stratum basale*, je složena z kožních buněk, keratinocytů. Ta přechází do vrstvy ostnité, *stratum spinosum*, a vrstva zrnitých buněk, *stratum granulosum*. Následuje *stratum lucidum*, tenká, skoro průsvitná vrstva, která se vyskytuje jen v místech, kde je kůže zrohovatělá. Vrchní vrstvou kůže je *stratum corneum*, jinak také známé pod názvem vrstva rohová. Tu tvoří vrstvy zploštělých odumřelých buněk tzv. korneocytů [4, 7].



Obrázek 3 Stavba pokožky „upraveno z [6]“

Pokožka je vrstvou kůže, která není protkána cévami, nicméně v hlubších vrstvách se nacházejí nervová zakončení sloužící k vnímání bolesti [11]. Hlubší buněčné vrstvy mají ponechanou dělicí schopnost a mohou tak doplňovat odumřelé buňky, které se postupně odlučují z povrchu pokožky [7].

Epidermis kromě keratinocytů obsahuje i další buněčné elementy, které plní specifické funkce [12, 13]. Keratinocyty jsou primární buňky *epidermis* specializované na syntézu a ukládání keratinu, což je sekundární bílkovina poskytující mechanickou odolnost a impermeabilitu. Jejich aktivita je klíčová pro vytváření a udržování funkční integrity kožního povrchu [7, 13, 14].

Melanocyty jsou buňky s výběžky obsahující melanin. Ten se syntetizuje a ukládá v melanosomech, což jsou organely v melanocytech [4]. Melanocyty mají za úkol vylučování volných kyslíkových radikálů, čímž chrání kožní buňky před jejich škodlivými účinky. Tento proces je klíčový pro udržení zdravého stavu kůže, prevenci kožních onemocnění a předčasného stárnutí kůže. Melanin rovněž absorbuje ultrafialové (UV) záření, čímž snižuje jeho dopad na DNA kožních buněk a pomáhá předcházet jejich poškození. Intenzita opálení je tak ovlivněna množstvím a aktivitou melanocytů, které se geneticky liší mezi jednotlivci. U některých jedinců však melanocyty nestačí neutralizovat všechny volné radikály vytvořené působením UV záření. To může vést k poškození buněk,

zánětlivým reakcím a spálení kůže, což se projevuje zarudnutím, podrážděním a bolestivostí [15]. Největší množství melanocytů lze najít ve *stratum basale* [12, 13]. Tyto buňky obsahují enzym tyrozinázu, který je zásadní pro tvorbu černohnědého pigmentu, ovlivňujícího výslednou barvu kůže [4, 13, 14].

Langerhansovy buňky, nacházející se v ostnitě vrstvě, mají hvězdovitý tvar. Buňky zaujmají 2–4 % celkového množství v *epidermis*. Tento typ buněk se uplatňuje při imunitních dějích v kůži [16].

1.1.2 Dermis

Škára, odborně nazývána *dermis* nebo *corium*, je tvořena dvěma vrstvami – papilární a retikulární. Povrchová vrstva škáry se skládá z jemných elastických vláken s velkým množstvím vazivových buněk. Do pokožky vybíhá papilami, proto se jí říká papilární vrstva – *stratum papillare*. Papily jsou drobné výběžky, které v různých tkáních plní specifické funkce, například na jazyku jsou součástí povrchu odpovědného za vnímání chuti a rozlišují se podle tvaru a rozmístění [17]. V oblasti kůže papily vytvářejí jemné výběžky škáry, které zvyšují pevnost spojení mezi škárou a pokožkou a umožňují lepší výživu *epidermis* díky prokrvení [18]. Pod touto vrstvou se diferencuje *stratum reticulare*. Zatímco v papilární vrstvě se kolagenová vlákna orientují volněji, ve vrstvě retikulární jsou kolagenová vlákna uspořádána do husté sítě, což poskytuje kůži pevnou strukturu a mechanickou podporu [4, 12]. Rozdíly v uspořádání vláken a síťování přispívají k celkové pevnosti, elasticitě a funkční rozmanitosti kůže, která zahrnuje ochrannou bariéru proti vnějším vlivům, termoregulaci, smyslové vnímání, udržování vodní rovnováhy, imunitní obranu a syntézu vitamínu D. Obě vrstvy kůže mají vliv na vnímání senzorických podnětů. Papilární vrstva obsahuje senzitivní nervová zakončení a drobné kapiláry. Mechanoreceptory, termoreceptory a receptory bolesti jsou lokalizovány v obou vrstvách kůže, což umožňuje komplexní vnímání podnětů z okolního prostředí [4, 14].

1.1.3 Hypodermis

Podkožní tkáň, často označována jako *hypodermis* nebo *tella subcutanea*, se nachází pod *dermis* a představuje nejhlubší vrstvu kůže. Je složena z vazivových a tukových buněk uspořádaných v síti pevných kolagenních vláken [4]. Nacházejí se zde také mazové a potní žlázy. Množství tukových buněk se liší v různých oblastech těla i mezi jednotlivými pohlavími. Tukové buňky slouží primárně jako zásobárna energie a jsou v nich rozpuštěny vitamíny A, D, E a K. V podkožní tkáni se nacházejí rovněž Vater-Paciniho tělíska – oválné

receptory uložené v hlubokých vrstvách kůže a ve stěnách sloužící k vnímání tlaku, tahu a vibrací [7, 19].

1.1.4 Kožní adnexa

Mezi kožní adnexa (přídavné kožní orgány) řadíme zrohovatělé deriváty pokožky (vlasy, chlupy a nehty) a kožní žlázy (potní a mazové) [19]. Vlasy a chlupy, hromadně nazývány jako ochlupení, se upínají na drobné svalstvo. Podle lidské rasy anebo také stářím člověka se barva vlasů mění. Tato změna je způsobena změnami v aktivitě melanocytů v koříncích vlasů, konkrétně v jejich schopnosti produkovat melanin, který je zodpovědný za pigmentaci. S postupujícím věkem melanocyty ztrácejí svou aktivitu, což vede ke snížení produkce melaninu, a vlasy tak postupně šediví nebo bělaví [20]. U některých jedinců tento proces začíná dříve, což je často dáno genetickou predispozicí. Podobné změny pigmentace lze pozorovat i u dalších zrohovatělých derivátů pokožky, například u chlupů a obočí, i když v menší míře. Naopak změna pigmentace nehtů není běžnou součástí přirozeného procesu stárnutí a může být spíše indikátorem zdravotních potíží [21, 22]. Ochlupení se dělí dle doby růstu na primární, sekundární a terciální. Primární ochlupení vzniká v sedmém měsíci nitroděložního vývoje. Sekundární ochlupení těla se objevuje ještě před narozením dítěte, nicméně probíhá hlavně po něm. Můžeme zde zařadit růst řas, obočí a vlasů. Jako poslední stadium je terciální ochlupení. Terciální ochlupení se poprvé objevuje vlivem hormonů během pubertálního období a pokračuje i v dospělosti [4, 19].

2 FUNKCE KŮŽE

Kůže plní řadu důležitých funkcí. Zejména se jedná o ochranu před škodlivými vlivy okolního prostředí, jako jsou mechanická, chemická a biologická rizika a záření. Funkci kůže můžeme také rozdělit na dva typy, ochrannou a senzorickou [4].

Mezi ochranné funkce řadíme mechanickou a chemickou bariéru. Mechanická ochrana je zprostředkována pevností a pružností kůže, které jsou částečně dány její strukturou, včetně kolagenních a elastických vláken v *dermis*, které po působení tahu umožňují návrat kůže do původní podoby a omezeně tak brání trvalé deformaci. V některých oblastech těla, jako jsou dlaně a plosky nohou, je rohová vrstva kůže tlustší, což poskytuje ještě větší mechanickou ochranu a odolnost vůči tlakům a tření [4, 7]. Naopak nejtenčí rohová vrstva se nachází na víčkách a v oblasti genitálií, kde její minimální tloušťka podporuje vyšší senzorickou citlivost a adaptaci na specifické funkce, jako je ochrana očí nebo zvýšená citlivost na dotykové podněty [23].

Mezi senzorické funkce, řadíme vnímání bolesti, jemného i hrubého dotyku a tlaku, tepla a chladu a řadíme zde pohybový, polohový a silový smysl. Dotyk zahrnuje vnímání mechanických podnětů prostřednictvím mechanoreceptorů, jako jsou Meissnerova a Merkelova tělíska pro jemné podněty a Paciniho tělíska pro hlubší tlak [24, 25]. Tyto funkce jsou umožněny specifickými receptory v kůži, které přenášejí podněty nervovými vlákny do centrální nervové soustavy k analýze [26, 27]. Můžeme zde zařadit i metabolické, termoregulační, resorpční, regenerační a komunikační funkce [4, 7].

2.1 Bariérová funkce pokožky

Fyzická bariéra kůže je složena z mrtvých, keratinizovaných buněk zvaných korneocyty, které jsou uloženy v lipidové matrici. Tato matrice lipidů je vysoce organizovaná, což znamená, že lipidy jsou uspořádány do struktury, která zajišťuje efektivní ochranu pokožky. Tento uspořádaný systém lipidů působí jako nepropustná „cihla a malta“, kde keratinizované buňky fungují jako cihly a lipidy jako malta, která je spojuje [28]. Tato organizace tvoří souvislou dráhu, skrze kterou mohou vnější látky nebo patogeny projít do kůže, a to buď transepidermální, transfolikulární nebo transglandulární cestou. V důsledku toho musí chemické látky vždy proniknout skrz mezibuněčné oblasti lipidů. Díky tomu je lipidová matrice klíčovým faktorem pro správnou obrannou funkci kožní bariéry [29].

Kožní bariéra má také schopnost udržet vodu uvnitř *stratum corneum*. Porucha této funkce často vede k zvýšení trans epidermální ztráty vody (TEWL). Měření TEWL se ukázalo jako spolehlivý indikátor funkčnosti kožní bariéry a zdraví pokožky. Kromě TEWL se pro hodnocení využívají i další parametry, jako je hladina hydratace pokožky, melaninový index, erytémový index a teplota kůže [30].

2.2 Tvorba kožní bariéry

Tvorba kožní bariéry je úzce spjata s procesem keratinizace, což je biologický proces, který představuje zásadní aspekt vývoje a struktury *epidermis*. Tento proces je charakterizován postupnou diferenciací a transformací bazálních keratinocytů na terminálně diferencované rohové buňky, které tvoří ochrannou rohovou vrstvu kůže. Začíná proliferací a diferenciací keratinocytů v bazální vrstvě *epidermis*, následnou postupnou migrací těchto buněk směrem k povrchu kůže. Během tohoto procesu dochází k nahromadění keratinu, fibrilárního proteinu, který poskytuje pevnost a odolnost buňkám. Diferencované keratinocyty postupně ztrácejí buněčné jádro a organely, což je nezbytné pro vytvoření pevné a odolné rohové vrstvy. Keratinizace je klíčová pro mechanickou ochranu těla před vnějšími škodlivými vlivy a udržení citlivosti kůže.

Buněčné organely jsou degradovány a keratinová vlákna se spojují do svazků, ty vyplňují vnitřek korneocyty. Korneocyty, které jsou keratinizované a mrtvé buňky pokožky, tvoří hlavní strukturu rohové vrstvy (*stratum corneum*) a hrají klíčovou roli v tvorbě kožní bariéry [31]. Na vnitřní straně jejich buněčné membrány se ukládá silná proteinová vrstva, která je následně obohacena specifickými lipidy, zejména ceramidy [32]. Tyto lipidy se vážou na vnější stranu membrány a umožňují orientaci lipidů v buněčné matrici. Tento proces orientace lipidů je prostorově organizován, což znamená, že lipidy se uspořádávají v konkrétních směrech, aby vytvořily stabilní a funkční bariéru [33]. Správná orientace lipidů je zásadní pro zajištění integrity kožní bariéry, protože umožňuje efektivní ochranu proti transepidermální ztrátě vody a zároveň zabraňuje pronikání škodlivých látek a patogenů do pokožky [7, 34].

Na povrchu kůže, ve vlasových folikululech a v mazových žlázách se nacházejí takzvané rezidentní bakterie, které zde žijí trvale. Mají klíčovou úlohu v ochraně proti škodlivým patogenům, mezi které patří bakterie jako koaguláza–negativní stafylokoky, koryneformní mikroorganismy (jako je *Propionibacterium acnes*, dříve známý jako *Cutibacterium acnes*, a *Corynebacteriaceae*). Tato rezidentní bakteriální flora produkuje enzymy nazývané lipázy,

které rozkládají kožní maz na mastné kyseliny. Tyto mastné kyseliny přímo pomáhají odstranit škodlivé stafylokoky a streptokoky. Navíc na kůži vytvářejí kyselé prostředí, které podporuje růst propionibakterií. Tyto bakterie produkují kyselinu propionovou, která má vysokou antimikrobiální aktivitu [34].

Kyselý kožní plášť obsahuje maz, odumřelé keratinocyty a další produkty metabolismu *epidermis*. Jeho hlavní funkcí je udržovat kyselé pH. Bariérové lipidy, tvořené z více než 50 % ceramidy, cholesterolem a volnými mastnými kyselinami, se seskupují již ve vrstvě *spinosum* do malých útvarů zvaných „membrane rafts“. Tyto granule postupně putují k vrstvě *granulosum*, kde jsou formovány do lamelárních tělísek. Tělíska se postupně přibližují k buněčné membráně, kde se jejich membrány spojí a dojde k uvolnění obsahu tělíska do mezibuněčného prostoru. Tímto způsobem vzniká permeabilní epidermální bariéra, primární ochranný prvek těla. Ochranný kožní plášť se tedy skládá z mazu, potu a odumřelých buněk pokožky [35].

3 IRITACE KŮŽE

Iritace kůže je charakterizována jako stav, ve kterém dochází k reverzibilním změnám [36]. Přímý kontakt kůže s různými chemikáliemi může vést k podráždění a poleptání. Podráždění způsobuje dočasné poškození tkání, což vyvolává lokální zánětlivou reakci charakterizovanou uvolňováním cytokinů, erytémem (zarudnutí) a edémem (otok) [37]. Poleptání kůže je trvalé poškození kůže, viditelné v podobě nekrózy postihující *epidermis* a pronikající do *dermis* [38]. V celé populaci bez rozdílu věku se může vyskytovat onemocnění kožní dermatitidy. Kožní onemocnění se nejčastěji objevují v důsledku kontaktu s okolními látkami, které mohou vyvolat iritační nebo alergickou reakci na kůži [39]. Dle doby projevu můžeme tyto projevy rozdělit na akutní, subakutní či chronické. Akutní fáze trvá obvykle méně než 6 týdnů a je charakterizována intenzivními příznaky, jako je zarudnutí, otok a puchýře. Subakutní fáze, která trvá od 6 týdnů do 3 měsíců, vykazuje červené (erytematózní) skvrny, přičemž příznaky se postupně zmírňují a jsou méně výrazné. Chronická dermatitida, která trvá déle než 3 měsíce, se projevuje červenými skvrnami, které mohou vyskytovat často opakujícími se záchvaty a dlouhodobými změnami kůže [40]. Pro všechny projevy je typické svědění, otok a pálení [7].

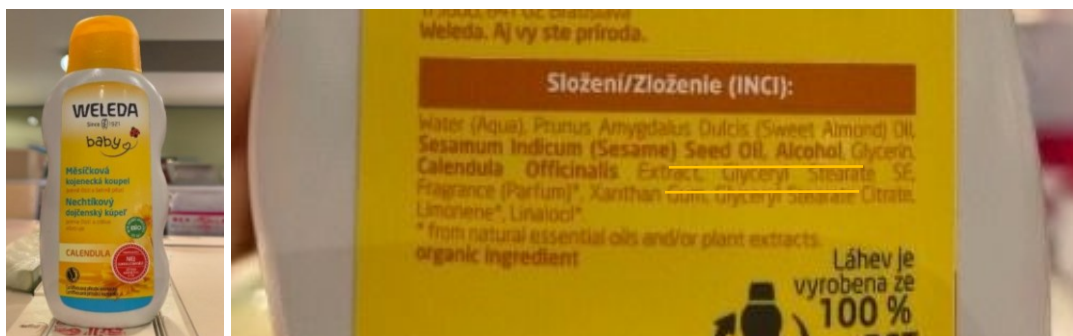
3.1 Metody snižování iritačního potenciálu

Existuje řada způsobů, jak snížit negativní dopad tensidů na pokožku lidského těla. Jednou z možností je například snížení koncentrace monomerů. Monomery absorbované na povrchu kůže mohou vyvolat nepříznivé reakce, například podráždění pokožky nebo alergickou reakci, případně mohou interagovat s keratinovým proteinem *stratum corneum*, což způsobí jeho denaturaci a vede k následnému odhalení míst, přes která pokožka ztrácí nadměrné množství vody. Tento proces vede k zduření rohové vrstvy kůže a změnám v její struktuře [8, 41]. Dalším způsobem snížení iritačního potenciálu je zvětšení velikosti micel tensidu a jejich stabilizace v roztoku, případně také přidavek hydrofobních substancí, polymerů a biopolymerů a použití mírnějších anionických tensidů [8, 42].

3.1.1 Použití primárních tensidů s mírnějším iritačním účinkem

Zásadním faktorem je vybrání správného a vhodného tensidu pro zajištění parametrů kosmetického přípravku, ten by měl mít nízký iritační potenciál. Za tensidy s mírnějším iritačním účinkem lze považovat například neonické tensidy. Neonické tensidy se běžně

využívají v kosmetice, a to zejména v kosmetice pro kojence a děti. Také se využívají v pečující kosmetice pro citlivou pokožku.



Obrázek 4 Příklad výrobku dětské kosmetiky obsahujícího neionické PAL (Glyceryl Stearate SE, Glyceryl Stearate Citrate)

Dalším typem tenzidů s nižším iritačním potenciálem jsou amfoterní tenzidy, které se většinou používají v kombinaci s dalšími tenzidy, jako sekundární PAL. Pro své antibakteriální vlastnosti se nejvíce využívají v kosmetických přípravcích kationické tenzidy [8, 43].

Vliv povrchově aktivních látek (PAL) na podráždění kůže ve své studii zkoumali například Mehling et al. (2007), a to pomocí dvou hlavních metod: epikutánního náplastového testu (ECT) a testu v mýdlové komoře (SCT). Celkem bylo testováno na skupině dobrovolníků 18 různých PAL. V rámci epikutánního testu byly 2% roztoky látek aplikovány na záda 20 subjektů po dobu 24 hodin pod okluzí (náplastí), přičemž reakce (erytém, edém, ...) byly hodnoceny ve stanovených intervalech ještě dalších 72 hodin po odstranění náplastí. Test SCT zahrnoval opakovanou aplikaci 1% roztoků na předloktí 21 subjektů po dobu pěti dní, s měřením transepidermální ztráty vody (TEWL) a vizuálním hodnocením podráždění, jako je zarudnutí a nebo praskání kůže [44].

Výsledky potvrdily výrazné rozdíly v iritačním potenciálu mezi jednotlivými PAL. Látky jako neionický Coco glucoside (obchodní název Plantacare 818) a anionický Sodium cocoyl hydrolyzed wheat protein (Gluadin WK) měly nízký dráždivý účinek, naopak nejvyšší míru podráždění vyvolával zástupce skupiny anionických látek Ammonium lauryl sulfate (Texapon ALS). Významnou roli sehrávala i opakovaná expozice, která zvyšovala výsledný stupeň iritace, což se odrazilo na hodnotách TEWL. Srovnání výsledků ukázalo, že volba správného typu PAL je klíčová pro minimalizaci iritace pokožky. Neionické a některé amfoterní látky se jeví jako nejvhodnější pro použití v produktech zaměřených na citlivou pokožku. Lze tedy konstatovat, že výběr vhodných povrchově aktivních látek má zásadní

význam pro dermatologickou snášenlivost kosmetických a hygienických přípravků, přičemž neiontové látky poskytují nejlepší výsledky z hlediska nízkého dráždivého potenciálu [44].

3.1.2 Aplikace směsí povrchově aktivních látek

Díky různým typům tenzidů v kosmetických produktech můžeme využít jejich synergického účinku pro snížení iritačního potenciálu. Aplikace směsí obsahujících různé typy PAL je jedna z nejjednodušších metod pro zvětšení velikosti micel v anionických PAL. Stabilitu pěn zvyšuje přidavek amfoterních tenzidů, vytvářena v roztoku anionických PAL [8, 43].

Byly prováděny rozsáhlé studie od Barandesca a Distanta z roku 1994 [45] s cílem zkoumat potenciál a dráždit pokožku při širokém používání směsí různých PAL. Výzkum Mehlinga a kolektivu z roku 2007 [44] také naznačuje, že použití směsí obsahujících povrchově aktivní látky různých typů je jednou z nejjednodušších metod, jak zvýšit velikost micel v aniontových PAL a zajistit tak jejich stabilitu. Kromě toho směsi různých povrchově aktivních látek ovlivňují snížení kritické micelární koncentrace (CMC), což má za následek snížení koncentrace monomerů v objemové fázi. Výzkum Mehlinga a kolektivu z roku 2007 [44] naznačuje, že uvedený účinek přispívá ke snížení potenciálu iritace kůže [8].

4 TESTY

Testování kožní dráždivosti a leptavosti kosmetických přípravků tvoří nedílnou část procesu vývoje nových produktů v kosmetickém průmyslu. Zajištění bezpečnosti a vhodnosti kosmetiky pro aplikaci na lidskou kůži je nezbytné z hlediska ochrany spotřebitelů a souladu s přísnými regulačními požadavky a normami. V rámci testování se uplatňují tři hlavní metody, a to *in vitro*, což znamená testování v laboratorních podmínkách, *in vivo*, kdy se testuje na živých subjektech, a umělé metody.

Dříve bylo běžné provádět testy na kožní dráždivost na zvířatech, což však dnes přináší otázky týkající se etiky. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely a zákon č. 246/1992 Sb. o ochraně zvířat proti týrání stanovují přísné podmínky a omezení pro používání zvířat ve výzkumu a také vyžadují minimalizaci utrpení zvířat a maximalizaci jejich pohody. Klíčovým právním předpisem v oblasti kosmetiky je Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích, které mimo jiné zakazuje uvádění kosmetických produktů na trh, pokud byly testovány na zvířatech. V této souvislosti získávají alternativní metody stále větší důležitost. Cílem zákona je ochrana živých tvorů, kteří jsou schopni pociťovat bolest a utrpení, před zneužíváním, poškozováním jejich zdraví a neopodstatněným usmrcením, ať už způsobeným záměrně, anebo z nedbalosti. Tento právní předpis je navržen s cílem začlenit do svého rámce relevantní směrnice a nařízení Evropské unie, přičemž se přizpůsobuje a upravuje v souladu s přímo aplikovanými právními předpisy [46].

V roce 1959 publikovali Russell a Burch knihu nazvanou *Principles of Humane Experimental Technique*, čímž představili nový obor aplikované vědy s cílem zdokonalit zacházení s výzkumnými zvířaty a zároveň zvýšit kvalitu vědeckého a lékařského výzkumu a testování. Tyto principy nebyly prezentovány jako definitivní standardy, ale spíše jako základ pro budoucí rozvoj vědy. Koncept 3R (Redukce, Zlepšení, Nahrazení), jako ho vědci poprvé pojmenovali, nebyl navržen pouze k usnadnění identifikace a využívání aktuálních technik, ale také jako podpora implementace nových nástrojů a metodologií, které reflektují základní cíle této nové disciplíny [47]. Princip 3R zůstává v praxi od svého původního zavedení v podstatě nezměněn, i když se drobně upravil důraz a definice. Dříve byl důraz kladen na snížení variability způsobené genotypickými rozdíly a interakcemi s proměnlivým prostředím. V současnosti je zdravotní stav zvířat ve výzkumu obvykle lépe definován a udržován v kontrolovaných podmínkách. Důraz se také kladl na péči o zvířata, což může zahrnovat volbu šetrnějších výzkumných protokolů nebo použití vhodnější anestezie.

Manipulace se zvířaty však může přinést utrpení, pokud neodpovídá jejich potřebám, což zdůrazňují vědci ve svém díle, když uvádějí, že „nemůžeme oddělit chov od samotného provedení experimentu“ [48].

Za vědecky validované alternativní metody testování kosmetických přípravků podle Evropského ústavu pro validaci alternativních metod (EURL ECVAM) a Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (OECD) patří *in vitro* testy s lidskými tkáněmi a buňkami, počítačové modely a rekonstituované lidské tkáně. Tyto metody nejen minimalizují potřebu testování na zvířatech, ale také poskytují přesnější a relevantnější informace o dráždivosti a leptavosti kosmetických přípravků na lidské kůži.

OECD je mezivládní instituce zřízena v roce 1960, jejímž hlavním úkolem je spolupracovat s vládami k pochopení faktorů, které ovlivňují ekonomické, sociální a environmentální změny, a hledat společné řešení pro sdílené problémy. Jednou z hlavních oblastí zájmů OECD je chemická bezpečnost, kterou řeší v rámci svého programu pro životní prostředí, zdraví a bezpečnost pesticidů a společně stanovují mezinárodní standardy, včetně systému vzájemného uznávání údajů (MAD) [49]. Směrnice OECD týkající se testování chemických látek pravidelně procházejí revizemi, aby reflektovaly nejnovější vědecké poznatky. Při revizi těchto směrnic se zvláštní pozornost věnovala možnostem vylepšení péče o životní podmínky zvířat a vyhodnocení všech dostupných informací o testované chemické látce, s cílem minimalizovat nepotřebné testy na laboratorní zvířatech [50].

Vývoj *in vitro* metod pro hodnocení kožní dráždivosti je v souladu s trendem ke snižování závislosti na testech na laboratorních zvířatech a odpovídá úsilí OECD o minimalizaci nepotřebných testů na zvířatech. Provádí se hodnocení genotoxického nebo estrogenního potenciálu jednotlivých látek nebo vzorků životního prostředí. Pro zkoumání specifických účinků na úrovni daných mechanismů se běžně využívají standardizované buněčné metody *in vitro* [51]. Přestože *in vivo* testy dlouhou dobu představovaly jedinou možnost, v současnosti existuje několik spolehlivých *in vitro* metod, které poskytují výsledky srovnatelné s účinky pozorovanými ve studiích *in vivo*. Jedna z nejčastěji používaných směrnic OECD (OECD TG) pro testování žíravých vlastností kůže *in vitro* je OECD TG 431, která využívá 3D rekonstituované modely lidské *epidermis* [52]. Tyto metody však často zahrnují složky živočišného původu, jako je například fetální hovězí sérum (FBS) nebo frakce jaterního homogenitu získané z potkanů, což může vést k variabilitě výsledků, snížené reprodukovatelnosti testu a vzniku etických problémů [51].

Referenční laboratoř EU pro alternativy k testování na zvířatech (EURL ECVAM), je klíčovou součástí Společenského výzkumného střediska, což je vědecká znalostní instituce Evropské komise. Sídli v italském městě Ispra a slouží jako centrum pro sdílení informací o vývoji alternativních metod [53]. ECVAM byl vytvořen v roce 1991 na základě oznámení komise, které se týkalo směrnice 86/609/EHS. Jeho úkolem bylo koordinovat validaci metod, které nepoužívají zvířata, na úrovni evropské unie a podporovat dialog mezi různými zainteresovanými stranami, včetně zákonodárců, průmyslových odvětví, vědců v oblasti biomedicíny, spotřebitelských organizací a ochranných skupin pro zvířata [54]. Cílem bylo vyvinout, validovat a mezinárodně uznávat alternativní testovací metody. V roce 2011 byly tyto povinnosti potvrzeny směrnicí 2010/63/EU, která formálně ustanovila ECVAM jako referenční laboratoře EU. Během devadesátých let se ECVAM zaměřoval především na potřeby legislativy EU v oblasti kosmetiky. Od svého vzniku také sehrává důležitou úlohu v prosazování principu 3R v oblasti biomedicíny. Aktivity ECVAM zahrnují školení, šíření informací a zapojení zúčastněných stran, což napomáhá propagaci pokročilých vědeckých znalostí a regulace pomocí alternativ k testování na zvířatech [55].

4.1 Epikutanní testy (ET)

Jedná se o standardní vyšetřovací metodou k průkazu kontaktní senzibilizace u dětí i dospělých. Slouží k zjišťování kontaktní alergické dermatitidy, která je 4. typem imunologické reakce. Testovací materiál obsahuje deset kruhových papírových nebo hliníkových terčů na hypoalergenní náplast a je připravován průmyslově. Spočívá v aplikaci testované látky na kůži zad na 48 hodin, odečítání probíhá dalších 24 a 48 hodin [34]. Mají dlouhodobou historii a dosud nebyly nahrazeny spolehlivější laboratorní metodou [8].

Používanými alergeny jsou pyly stromů, plevelů, trav, roztoči a srst zvířat. Alergeny jsou dodávány nejčastěji ve stříkačkách, rozpuštěny jsou ve vazelině, poté se aplikují do hliníkových terčů. Interpretace výsledků bývá velmi obtížná [8, 34].

4.1.1 Indikace a kontraindikace k epikutanním

Indikace označuje důvod, kdy je určité testování doporučeno nebo vyžadováno. Tyto testy se provádějí při podezření na přecitlivělost vůči látkám z prostředí (PAL, konzervanty, parfemace), u pacientů s ekzémy anebo při náhlém zhoršení zdravotního stavu pokožky [8].

Naopak kontraindikace je důvod, proč nelze určitý výkon provést, protože by testy nebyly průkazné a případně by mohlo dojít i k poškození zdraví testovaného. Mezi tyto stavy se řadí akutní dermatitida, dlouhodobě špatný stav pokožky, reakce s medikací pacienta nebo třeba těhotenství [34].

4.1.2 Testovací materiál

Materiál je připravován průmyslově. Obsahuje celkem deset kruhových papírových, plst'ových, hliníkových terčů (komůrkové testy) vnitřním průměru 8 mm na hypoalergenní náplasti. Obvyklý počet v jednom testovacím setu je deset testovacích polí [34].

Existují dva druhy ET, uzavřené a otevřené. Uzavřené ET dělíme na klasický uzavřený, skarifikační a fotosenzibilizační testy. Poté otevřené ET dělíme na otevřené iontoforetický test [34].

4.1.3 Uzavřený ET

Nejčastěji používanými testy jsou uzavřené ET. Jedná se o test, při kterém je zkoumána látka o dané koncentraci, aplikovaná na kůži. Testy jsou přikládány na záda, jak můžeme vidět na obrázku 11, a to přesněji 10 centimetrů pod poslední krční obratel. Testy jsou ponechány na kůži 48 hodin. Poté se test vyhodnotí poprvé a za dalších 24 hodin se test vyhodnotí podruhé, to už se bude jednat o závěrečné vyhodnocení. Může se vytvořit alergická anebo iritační reakce. U alergické reakce při kontaktní dermatitidě se vyskytuje nejčastěji svědění a u iritační reakce při toxické dermatitidě se vyskytuje spíše pálení. Iritační reakce je důsledkem vysoké koncentrace testované látky [8, 34].



Obrázek 5 Epikutánní test aplikován na zádech [53]

4.2 Zeinův test

Účinek tenzidů lze například vyhodnotit pomocí Zeinova testu. U tohoto typu testu se používá rostlinný protein zein, který se vyskytuje v semenech obilovin, a to zejména v kukuřici [56]. Zein je biokompatibilní a nerozpustný ve vodě díky obsahu uhlovodíkových řetězců ve struktuře, ale může být však rozpuštěn ve směsi vody a alifatických alkoholů [57]. Tento test je jednou z nejrozšířenějších screeningových metod pro hodnocení smáčivosti povrchově aktivních látek [56]. Kromě toho, zein vykazuje unikátní filmotvorné vlastnosti. Silné disulfidové a hydrofobní interakce mezi proteinovými molekulami tvoří základ pro vytváření tenkých filmů. Zein může samovolně agregovat monomery v závislosti na pH, teplotě, iontové síle a elektrickém poli. Také může zein interagovat s polysacharidy, biologickými látkami a jinými proteiny [42].

Zeinův test stanovuje tzv. zeinovo číslo. Jedná se o solubilizaci daného množství nerozpustného proteinu povrchově aktivními látkami ve vodě. Poté je měřeno množství uvolněného dusíku z roztoku proteinu. Vyšší množství dusíku představuje větší iritační potenciál [8, 56].

Hodnota zeinového čísla je získána podle vzorce [8]:

$$\text{ZEIN} = A - B \text{ [mg N / 100 ml roztoku]}$$

Kde A představuje koncentraci látky ve vzorku a B-referenční hodnota, která musí být odečtena od hodnoty A pro výpočet rozdílu.

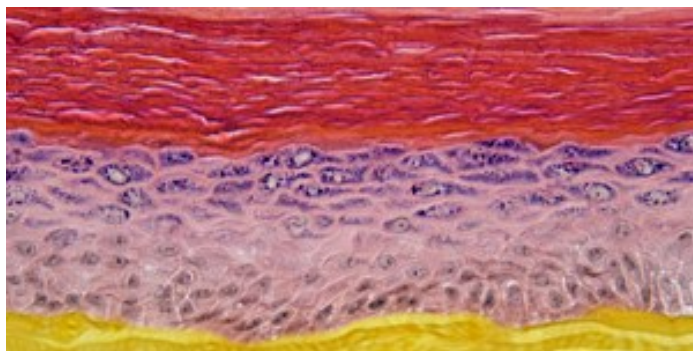
Zeinův test poskytuje spíše kvalitativní než kvantitativní výsledky a plně nemusí simulovat složité interakce, k nimž dochází v reálných aplikacích. Proto může být k vyhodnocení účinnosti povrchově aktivních látek v konkrétních formulacích nebo podmínkách nutné provést další zkoušky a analýzy.

4.3 Testování iritace na modelech rekonstituované lidské epidermis

V současné době se používá několik komerčně dostupných modelů rekonstituované lidské *epidermis* (RhE). V této kapitole budou popsány některé z nich.

Cannon a spol. poprvé představili model EpiDerm v roce 1994. Podle datového listu od společnosti MatTek Corporation je kožní model EpiDerm popsán jako „normální lidské epidermální keratinocyty, které byly kultivovány za účelem vytvoření vícevrstvého, silně diferencovaného modelu lidské *epidermis*“ [58]. Produkt EpiDerm byl uveden na trh v roce 1993. Společnost poskytuje širokou škálu dalších modelů, včetně rekonstituované *epidermis* s obsahem melanocytů, rekonstituovaného epitelu rohovky a dalších [59]. V roce 1998 byly zkoušky EpiSkin a TER *in vitro* úspěšně ověřeny pro jejich schopnost testovat korozní agresivitu a splnily stanovená kritéria přijatelnosti, která předtím stanovil řídicí tým mezinárodní validační studie ECVAM. V roce 2002 nově navržené testovací směrnice TG 430 (TER) a TG 431(model lidské kůže) pro *in vitro* testy korozivity na kůži byly schváleny národními koordinátory programu zkušených směrnic OECD (WNT). Tyto směrnice byly nakonec přijaty v roce 2004 [58].

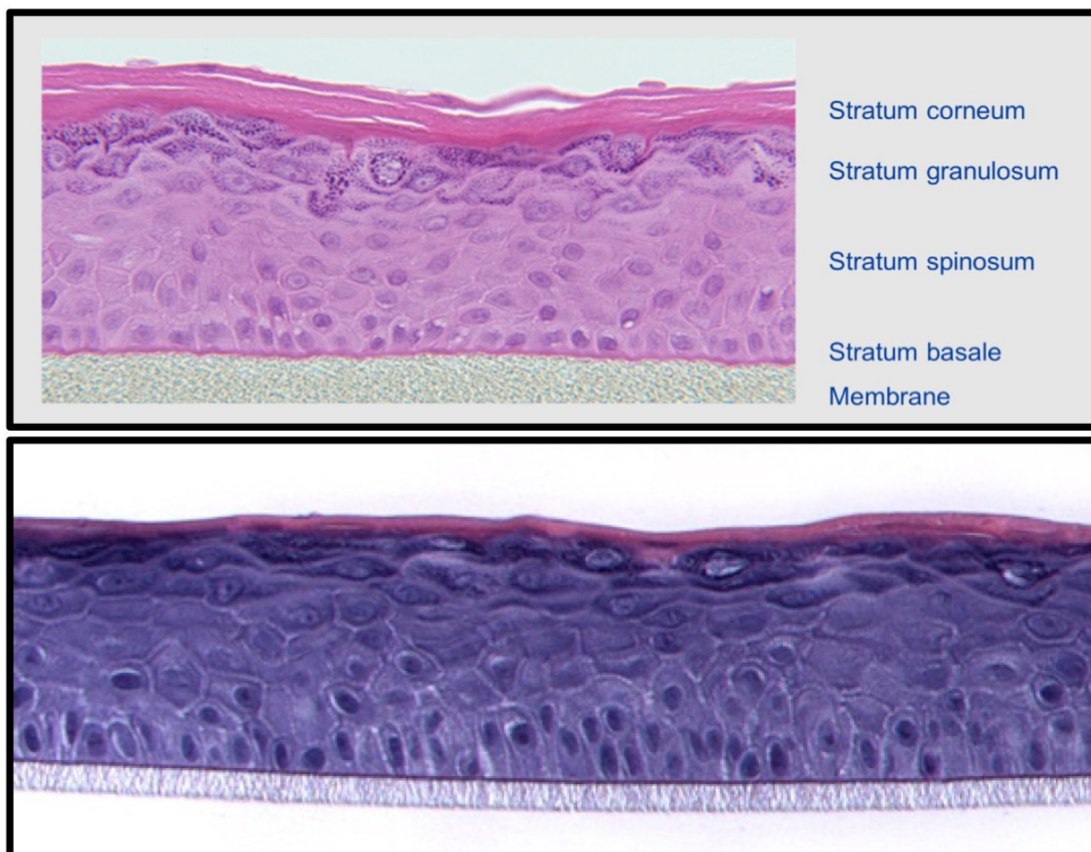
Model EpiSkin je trojrozměrná rekonstituovaná lidská *epidermis*, což vidíme na obrázku 5, která má strukturu podobnou skutečné kůži [60]. Je uměle vytvořená a vzniká z lidských keratinocytů pěstovaných na kolagenové podložce na hranici mezi vzduchem a kapalinou. Tento model existuje v několika různých stádiích zrání [61]. Obsahuje vrstvy jako je bazální, suprabazální, spinální a granulační, a funkční *stratum corneum*, což je vnější ochranná vrstva kůže. Oproti běžným vzorkům má rohová vrstva v EpiSkinu větší počet buněčných vrstev, což ji činí silnější [45]. Je využívána v kosmetickém a vědeckém průmyslu jako alternativa k testování na zvířatech. Pro hodnocení iritačního potenciálu chemických látek aplikovaných na kůži je možné využít specializované testovací metody [60].



Obrázek 6 Model EpiSkin trojrozměrná rekonstituovaná lidská *epidermis* [61].

Metoda EpiDerm™ Skin Irritation Test (SIT) byla ověřena Evropským centrem pro validaci alternativních metod (ECVAM) a je začleněna do technických směrnic OECD 439 a směrnice EU B.46. Tato metoda prokázala svou spolehlivost při testování čistých průmyslových chemikálií za účelem klasifikace a označování. Nově upravený protokol EpiDerm™ Skin Irritation Assay se používá k identifikaci možného podráždění způsobeného přítomností dráždivých látek v extraktech ze zdravotnických prostředků, i když jsou tyto látky přítomny ve velmi nízkých koncentracích [62].

Tkáňové modely EpiDerm™ a SkinEthic™ (obrázek 13) jsou schopny spolehlivě identifikovat téměř všechny vzorky dráždivých polymerů, ať už jsou ve fyziologickém roztoku, sezamovém oleji nebo v extraktech obou rozpouštědel. Modely tkání RhE jsou schopny detekovat přítomnost vysoko dráždivých látek pro kůži v nízkých koncentracích ve zředěných extraktech polymerů. Modely tedy mohou být efektivní alternativou k testování dráždivosti kůže na králících při posuzování biologického účinku zdravotnických prostředků [63].

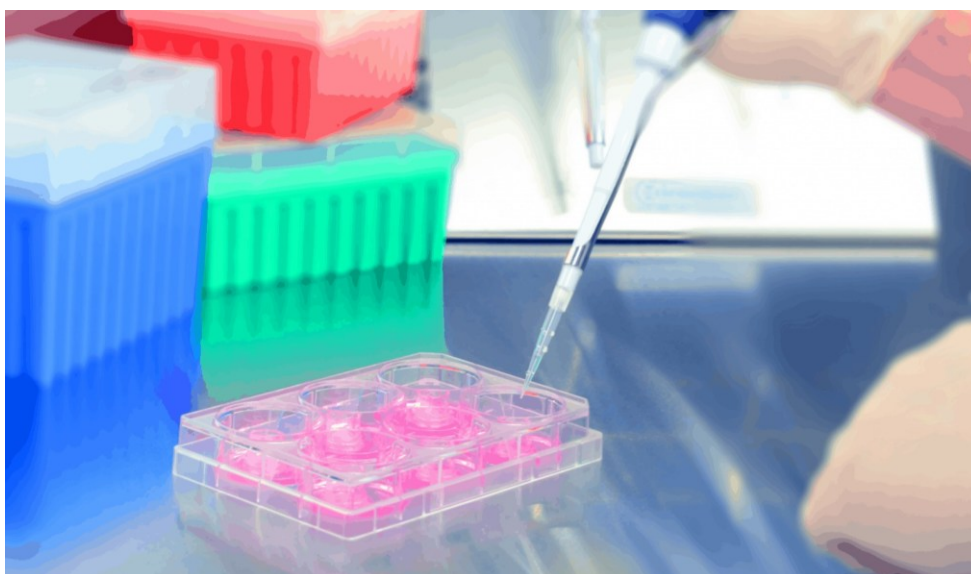


Obrázek 7 Rekonstituovaná lidská *epidermis*, v horní části je model MatTek EpiDerm TM, zatímco v dolní části je model EpiSkin SkinEthic TM RhE [63].

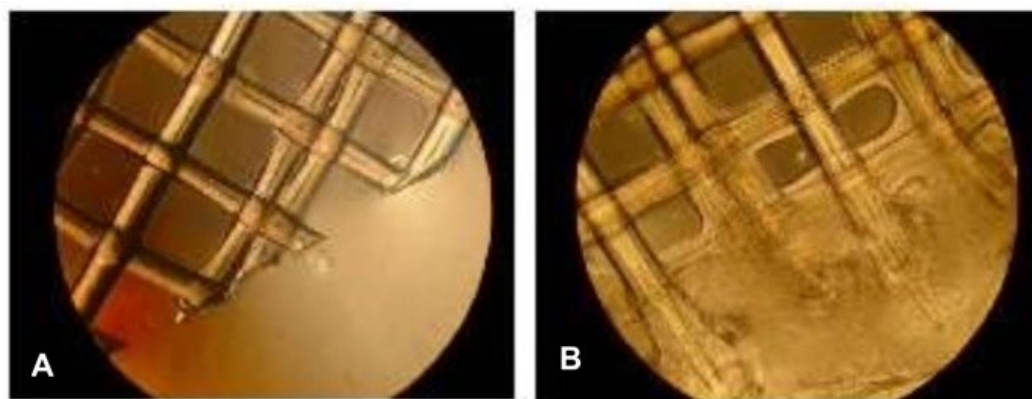
OECD TG 439 popisuje metodu testování podráždění kůže pomocí modelu RhE. Tyto modely, které jsou vytvořeny s lidskými buňkami, napodobují morfologii a vlastnosti lidské *epidermis*. Na obrázku jsou zobrazeny dva modely RhE, na kterých lze jasně identifikovat všechny různé vrstvy normální kůže, od bazální buněčné vrstvy (*stratum basale*) až po zrohovatělou vnější vrstvu kůže (*stratum corneum*) [63].

Akutní podráždění kůže je lokální zánětlivá reakce u normální kůže, když je vystavena chemické látce s dráždivými vlastnostmi. Použití modelu pro kožní dráždivost zahrnuje aplikaci zkoušené chemické látky. Poté následuje posouzení životaschopnosti buněk a cytotoxicity [60]. To měříme podle testu MTT, který zobrazuje obrázek 8. Princip spočívá v přeměně žluté tetrazoliové soli MTT na modré formazanové barvivo prostřednictvím dyhydrogenázových enzymů v aktivních mitochondriích [63]. Metoda využívá zmražené tkáně, které jsou deaktivovány mrazem a nemají žádnou metabolickou aktivitu, avšak stále schopné absorbovat a vázat testovanou látku podobně jako živé tkáně. Zmražené tkáně lze zakoupit samostatně od společností MatTek Corporation (USA) nebo MatTek *In Vitro* Life Science Laboratories (Slovensko) a uchovávat v mrazničce ($-20 \pm 5^\circ\text{C}$) po neomezenou

dobu [58]. Testování v praxi probíhá už od prvního dne, kdy jsou tkáně EpiDerm inkubovány, aby se uvolnily sloučeniny a zbytky spojeny s transportním stresem. Před procesem vystavení tkání chemickým látkám, musí být proveden test, zda chemická látka působí spolu se sítí, což můžeme vidět na obrázku 9. Po předběžné inkubaci jsou tkáně vystaveny testovaným chemickým látkám po dobu 60 minut (obrázek 10), poté se tkáně důkladně opláchnou, odstraní se testované látky a přenesou se do nového media (obrázek 11). Když je ukončena 24hodinová inkubace, odeberou se vzorky pro analýzu cytokinů a následovně jsou tkáně opět inkubovány dalších 18 hodin. Poté se provede test MTT, kde se tkáně přenesou na destičky obsahující MTT médium [60]. Po 3 hodinách inkubace se extrahuje modrá formazanová sůl, vytvořená buněčnými mitochondriemi, pomocí isopropanolu. Dále se pomocí spektrometrie určí optická hustota extrahovaného formazanu při vlnové délce 570 nm, následně se vypočte relativní životaschopnost buněk jako procentuální hodnota vzhledem k průměru negativních kontrolních tkání. Pokud je tato relativní životaschopnost buněk nižší než 50 %, předpokládá se potenciál dráždivosti testovaného materiálu pro kůži [58, 62].



Obrázek 8 Test MTT [64]



Obrázek 9 Test kompatibility sítě, A) Síťovina bez jakékoliv reakce se zkušebním materiálem B) Síť poškozená, reagovala se zkušebním materiálem [63]



Obrázek 10 Použití testovacích chemických látek [58]



Obrázek 11 Postup mytí [62]

ZÁVĚR

Bakalářská práce se věnuje analýze iritačního potenciálu látek používaných v kosmetickém průmyslu, zejména povrchově aktivních látek (PAL), a jejich vlivu na pokožku. Kůže je klíčovým orgánem lidského těla, který plní jak ochrannou, tak senzorickou funkci. Vzhledem k tomu, že je neustále vystavována chemickým látkám obsaženým v kosmetických přípravcích, je nutné pochopit mechanismy, kterými tyto látky ovlivňují její stav. Práce poskytuje detailní analýzu iritace PAL a nabízí praktické návrhy, jak minimalizovat jejich negativní vliv na pokožku.

Jedním z hlavních cílů této práce bylo zhodnotit metody snižování iritačního potenciálu látek. Bylo zjištěno, že jedním z nejefektivnějších způsobů je snížení koncentrace agresivních monomerů, což významně přispívá k ochraně pokožky před podrážděním. Dalším doporučením je použití kombinací méně dráždivých látek nebo preferování PAL s nižším iritačním potenciálem, například neiontových nebo amfoterních látek. Tyto látky jsou šetrnější k pokožce a jsou vhodné zejména pro citlivé skupiny, jako jsou děti nebo osoby s dermatologickými problémy.

Práce rovněž upozorňuje na význam moderních testovacích metod pro hodnocení dráždivosti látek. *In vitro* testy na buněčných kulturách a testy na rekonstituované lidské kůži se ukázaly jako užitečné a přesné nástroje pro predikci iritace. Tyto metody nejenže poskytují spolehlivé výsledky, ale také eliminují nutnost používání zvířecích modelů, což přináší etické i praktické výhody.

Tato práce významně přispívá k teoretickému pochopení problematiky iritace kůže. Kromě analýzy mechanismů podráždění se zaměřuje na praktická doporučení pro kosmetický průmysl. Získané poznatky mohou být využity při vývoji nových produktů s nižším iritačním potenciálem, což povede ke zlepšení kvality produktů a zvýšení komfortu uživatelů. Současně tato práce zdůrazňuje potřebu dalšího výzkumu v oblasti vývoje šetrnějších a bezpečnějších formulací, které budou respektovat nejen pokožku, ale i životní prostředí.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] CHETTOUH-HAMMAS, Nadira a Catherine GRILLON. Physiological skin oxygen levels: An important criterion for skin cell functionality and therapeutic approaches. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2024, **222**, 259–274. ISSN 08915849. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2024.06.015
- [2] SHAH, Jasmine, Gerard MCKNIGHT a Rachel HARGEST. Physiology of the skin. *Surgery (Oxford)* [online]. 2024, S0263931924001686. ISSN 02639319. Dostupné z: doi:10.1016/j.mpsur.2024.09.008
- [3] MACGIBENY, Margaret A., Susuana ADJEI, Hunter PYLE, Christopher G. BUNICK, Mahmoud GHANNOUM, Ayman GRADA, Tamia HARRIS-TRYON, Stephen K. TYRING a Heidi H. KONG. The Human Skin Microbiome in Health: CME Part 1. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2024, S0190962224026719. ISSN 01909622. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaad.2024.07.1498
- [4] ALBERTS, Bruce, ed. *Molecular biology of the cell*. 5th ed. New York: Garland Science, 2008. ISBN 978-0-8153-4105-5.
- [5] RAJNOCHOVÁ SVOBODOVÁ, Alena. *Poškození kůže působením slunečního záření, možnosti ochrany a prevence*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2012. ISBN 978-80-244-3183-3.
- [6] PANČÍK, Peter. *Krycia sústava* [online]. B.m.: Biopedia.sk. 2016. Dostupné z: <https://biopedia.sk/clovek/krycia-sustava>
- [7] JAMES, William D. *Andrews' Diseases of the Skin: Clinical Dermatology*. 13th ed. Philadelphia: Elsevier, 2019. ISBN 978-0-323-54753-6.
- [8] SEWERYN, Artur. Interactions between surfactants and the skin – Theory and practice. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2018, **256**, 242–255. ISSN 00018686. Dostupné z: doi:10.1016/j.cis.2018.04.002
- [9] *Mnohobuněční živočichové* [online]. B.m.: ELUC. Dostupné z: <https://eluc.ikap.cz/verejne/lekce/97>
- [10] STRUNECKÁ, Anna a Jiří PATOČKA. *Doba jedová*. Vyd. 1. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2011. ISBN 978-80-7387-469-8.
- [11] BURCZYK, Frank a Aggy GIANNI. *Lexikon kosmetiky od A do Z: jak se vyhnout alergiím, jak rozpoznat, co je škodlivé, jak rozumět deklaracím*. Praha: Pragma, 2003. ISBN 978-80-7205-939-3.
- [12] FEŘTEKOVÁ, Vlasta. *Kosmetika v teorii a v praxi*. Praha: Maxdorf, 1994. ISBN 978-80-85800-20-3.
- [13] PIZINGER, Karel. *Kožní pigmentové projevy*. 1. vyd. Praha: Grada, 2003. ISBN 978-80-247-0616-0.
- [14] KANG, Sewon, ed. *Fitzpatrick's dermatology*. Ninth edition. New York: McGraw-Hill Education, 2019. ISBN 978-0-07-183779-8.

- [15] EMRI, Gabriella, György PARAGH, Ágnes TÓSAKI, Eszter JANKA, Sándor KOLLÁR, Csaba HEGEDŰS, Emese GELLÉN, Irén HORKAY, Gábor KONCZ a Éva REMENYIK. Ultraviolet radiation-mediated development of cutaneous melanoma: An update. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [online]. 2018, **185**, 169–175. ISSN 10111344. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotobiol.2018.06.005
- [16] MERKUNOVÁ, Alena a Miroslav OREL. *Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-1521-6.
- [17] IWASAKI, Shin-ichi, Ken YOSHIMURA, Junji SHINDO a Ikuo KAGEYAMA. Comparative morphology of the primate tongue. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* [online]. 2019, **223**, 19–31. ISSN 09409602. Dostupné z: doi:10.1016/j.aanat.2019.01.008
- [18] WITT, Martin. Anatomy and development of the human taste system. In: *Handbook of Clinical Neurology* [online]. B.m.: Elsevier, 2019 [vid. 2024-11-20], s. 147–171. ISBN 978-0-444-63855-7. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-444-63855-7.00010-1
- [19] MANUELYAN, Karen, Miroslav DRAGOLOV, Kossara DRENOVSKA, Martin SHAHID a Snežina VASSILEVA. Artificial intelligence in autoimmune bullous dermatoses. *Clinics in Dermatology* [online]. 2024, **42**(5), 426–433. ISSN 0738081X. Dostupné z: doi:10.1016/j.clindermatol.2024.06.008
- [20] ADAV, Sunil S. a Kee Woei NG. Recent omics advances in hair aging biology and hair biomarkers analysis. *Ageing Research Reviews* [online]. 2023, **91**, 102041. ISSN 15681637. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2023.102041
- [21] VAN NESTE, Dominique a Desmond J TOBIN. Hair cycle and hair pigmentation: dynamic interactions and changes associated with aging. *Micron* [online]. 2004, **35**(3), 193–200. ISSN 09684328. Dostupné z: doi:10.1016/j.micron.2003.11.006
- [22] MAKKAR, Jasson, Jorge FLORES, Mason MATICH, Tommy T. DUONG, Sean M. THOMPSON, Yiqing DU, Isabelle BUSCH, Quan M. PHAN, Qing WANG, Kristen DELEVICH, Liam BROUGHTON-NEISWANGER, Iwona M. DRISKELL a Ryan R. DRISKELL. Deep Hair Phenomics: Implications in Endocrinology, Development, and Aging. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 2024, S0022202X24020797. ISSN 0022202X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jid.2024.08.014
- [23] KONYA, Issei, Rika YANO, Yoichi M. ITO, Hiroaki IWATA, Mayumi YOSHIDA, Chiaki WATANABE a Akemi MORITA. A nomogram to predict skin barrier dysfunction induced by mechanical irritation during skincare in hospitalized Japanese older adults. *Geriatric Nursing* [online]. 2024, S0197457224003513. ISSN 01974572. Dostupné z: doi:10.1016/j.gerinurse.2024.10.031
- [24] FEITO, J., O. GARCÍA-SUÁREZ, J. GARCÍA-PIQUERAS, Y. GARCÍA-MESA, A. PÉREZ-SÁNCHEZ, I. SUAZO, R. CABO, J. SUÁREZ-QUINTANILLA, J. COBO a J.A. VEGA. The development of human digital Meissner's and Pacinian corpuscles. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* [online]. 2018, **219**, 8–24. ISSN 09409602. Dostupné z: doi:10.1016/j.aanat.2018.05.001

- [25] GARCÍA-MESA, Yolanda, Jorge FEITO, Patricia CUENDIAS, Jorge GARCÍA-PIQUERAS, Antonino GERMANÀ, Olivia GARCÍA-SUÁREZ, Benjamín MARTÍN-BIEDMA a José A. VEGA. The acquisition of mechanoreceptive competence by human digital Merkel cells and sensory corpuscles during development: An immunohistochemical study of PIEZO2. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* [online]. 2022, **243**, 151953. ISSN 09409602. Dostupné z: doi:10.1016/j.aanat.2022.151953
- [26] JOHNSON, K. The roles and functions of cutaneous mechanoreceptors. *Current Opinion in Neurobiology* [online]. 2001, **11**(4), 455–461. ISSN 09594388. Dostupné z: doi:10.1016/S0959-4388(00)00234-8
- [27] MACEFIELD, Vaughan G. The roles of mechanoreceptors in muscle and skin in human proprioception. *Current Opinion in Physiology* [online]. 2021, **21**, 48–56. ISSN 24688673. Dostupné z: doi:10.1016/j.cophys.2021.03.003
- [28] UCHINO, Tomonobu, Ichiro HATTA, Michiaki NAKAJO, Yuna IWANO, Mayuko OKADA, Ryuji YUMOTO, Yasunori MIYAZAKI a Yoshiyuki KAGAWA. Evaluation of molecular interaction between intercellular lipid organization in human stratum corneum and terpenes using time-resolved synchrotron X-ray diffraction. *Chemistry and Physics of Lipids* [online]. 2024, **265**, 105435. ISSN 00093084. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2024.105435
- [29] BOUWSTRA, Joke A., Andreea NĂDĂBAN, Wim BRAS, Clare MCCABE, Annette BUNGE a Gerrit S. GOORIS. The skin barrier: An extraordinary interface with an exceptional lipid organization. *Progress in Lipid Research* [online]. 2023, **92**, 101252. ISSN 01637827. Dostupné z: doi:10.1016/j.plipres.2023.101252
- [30] IWASHITA, Keiko, Reo ETANI, Michiaki KAI a Mitsuaki OJIMA. Effect of standard skin care treatments on skin barrier function in X-irradiated hairless mice. *Asia-Pacific Journal of Oncology Nursing* [online]. 2023, **10**(1), 100149. ISSN 23475625. Dostupné z: doi:10.1016/j.apjon.2022.100149
- [31] ANDONOVA, Maria a Valentina URUMOVA. Immune surveillance mechanisms of the skin against the stealth infection strategy of *Pseudomonas aeruginosa*—Review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* [online]. 2013, **36**(5), 433–448. ISSN 01479571. Dostupné z: doi:10.1016/j.cimid.2013.03.003
- [32] OBATA, Y., M. OMOTE, Y. ARAI, N. OHTA a K. ISHIDA. 625 Role of eutectic mixture of ceramides for reconstruction of stratum corneum intercellular lipid model. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 2018, **138**(5), S106. ISSN 0022202X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jid.2018.03.634
- [33] ALTUN, Diyar, Per LARSSON, Christel A.S. BERGSTRÖM a Shakhawath HOSSAIN. Molecular dynamics simulations of lipid composition and its impact on structural and dynamic properties of skin membrane. *Chemistry and Physics of Lipids* [online]. 2024, **265**, 105448. ISSN 00093084. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2024.105448
- [34] STORK, Jiří. *Dermatovenerologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 2008. ISBN 978-80-7262-371-6.

- [35] MACHÁČKOVÁ, MUDr Kateřina. Bariérová funkce kůže – nový pohled při péči o dětskou pokožku. nedatováno.
- [36] PAGE, Kathryn, Walter WESTERINK, Kristie SULLIVAN, Thomas MCDONALD a Clive ROPER. Assessment of the utility of the novel Phenion® full thickness human skin model for detecting the skin irritation potential of antimicrobial cleaning products. *Toxicology in Vitro* [online]. 2024, **94**, 105726. ISSN 08872333. Dostupné z: doi:10.1016/j.tiv.2023.105726
- [37] GAVIRIA AGUDELO, Catalina, N.Y. BECERRA, J.D. VERGARA, L.A. CORREA, S. ESTRADA a L.M. RESTREPO. Dermo-epidermal organotypic cultures for *in vitro* evaluation of skin irritation and corrosion. *Toxicology in Vitro* [online]. 2020, **63**, 104657. ISSN 08872333. Dostupné z: doi:10.1016/j.tiv.2019.104657
- [38] KWAK, Jin Il, Haemi KIM a Youn-Joo AN. Earthworm half-pipe assay: A new alternative *in vivo* skin corrosion test using invertebrates. *Environmental Pollution* [online]. 2022, **307**, 119519. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2022.119519
- [39] JANOUSHKOVÁ a MACHOVCOVÁ. Kontaktní dermatitidy – část I. *Čes-slov Derm.* nedatováno, **2016**(3), 102–112.
- [40] DAVIS, Mark. DERMATITIS. In: *Pharmacology and Therapeutics* [online]. B.m.: Elsevier, 2009 [vid. 2024-11-26], s. 1007–1014. ISBN 978-1-4160-3291-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-1-4160-3291-5.50076-7
- [41] RANJIT, Eliza, Stephen HAMLET, Roy GEORGE, Ajay SHARMA a Robert M. LOVE. Biofunctional approaches of wool-based keratin for tissue engineering. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices* [online]. 2022, **7**(1), 100398. ISSN 24682179. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsamd.2021.10.001
- [42] YUAN, Dan, Xin HUANG, Qingran MENG, Jiajia MA, Yi ZHAO, Qinfei KE a Xingran KOU. Recent advances in the application of zein-based gels: A review. *European Polymer Journal* [online]. 2022, **179**, 111557. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2022.111557
- [43] BAREL, André O., Marc PAYE a Howard I. MAIBACH, ed. *Handbook of Cosmetic Science and Technology* [online]. 0 vyd. B.m.: CRC Press, 2014 [vid. 2024-10-19]. ISBN 978-0-429-09931-1. Dostupné z: doi:10.1201/b16716
- [44] MEHLING, A., M. KLEBER a H. HENSEN. Comparative studies on the ocular and dermal irritation potential of surfactants. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2007, **45**(5), 747–758. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2006.10.024
- [45] BERARDESCA, Enzo a Fernanda DISTANTE. The modulation of skin irritation. *Contact Dermatitis* [online]. 1994, **31**(5), 281–287. ISSN 0105-1873, 1600-0536. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0536.1994.tb02019.x
- [46] *Odstavec předpisu 77/2006 Sb. Zákon Parlamentu České republiky č. 77/2006 Sb., kterým se mění zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů Čl.I* [online]. Dostupné z: <https://mze.gov.cz/public/portal/mze/legislativa/vap62232-33#>

- [47] TANNENBAUM, Jerrold a B. Taylor BENNETT. Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*. 2015, **54**(2), 120–132. ISSN 2769-6677.
- [48] HUBRECHT, Robert C. a Elizabeth CARTER. The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change. *Animals: an open access journal from MDPI* [online]. 2019, **9**(10), 754. ISSN 2076-2615. Dostupné z: doi:10.3390/ani9100754
- [49] NIKFAR, Shekoufeh a Shilan MOZAFFARI. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). In: *Encyclopedia of Toxicology* [online]. B.m.: Elsevier, 2024 [vid. 2024-10-19], s. 157–165. ISBN 978-0-323-85434-4. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-824315-2.00579-0
- [50] *OECD guideline 404_Acute Dermal Irritationcon_corrosion*
- [51] REICHSTEIN, Insa S., Maria KÖNIG, Niklas WOJTYSIK, Beate I. ESCHER, Luise HENNEBERGER, Peter BEHNISCH, Harrie BESSELINK, Beat THALMANN, Julien COLAS, Sarah HÖRCHNER, Henner HOLLERT a Andreas SCHIWY. Replacing animal-derived components in *in vitro* test guidelines OECD 455 and 487. *Science of The Total Environment* [online]. 2023, **868**, 161454. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2023.161454
- [52] HOERST, A., M. HERMANN, K.R. MEWES, L. STEINMEYER a M. BUCHHOLZER. Apparent limitations of OECD TG 431 for classification of acrylic- and methacrylic-based adhesives. *Toxicology in Vitro* [online]. 2024, **94**, 105700. ISSN 08872333. Dostupné z: doi:10.1016/j.tiv.2023.105700
- [53] *LR* [online]. 2024. Dostupné z: <https://www.lohmann-rauscher.com/cz-cs/produkty/dermatologie/curatest/>
- [54] *EURL ECVAM* [online]. B.m.: European commission. Dostupné z: https://joint-research-centre.ec.europa.eu/eu-reference-laboratory-alternatives-animal-testing-eurl-ecvam/alternative-methods-toxicity-testing/eurl-ecvam-validation-resources_en
- [55] ZUANG, Valérie, Andrew P. WORTH a Michael BALLS. The Role of ECVAM. In: *The History of Alternative Test Methods in Toxicology* [online]. B.m.: Elsevier, 2019 [vid. 2024-10-19], s. 95–107. ISBN 978-0-12-813697-3. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-813697-3.00013-5
- [56] LAI, Kuo-Yann, ed. *Liquid detergents*. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. Surfactant science series, v. 129. ISBN 978-0-8247-5835-6.
- [57] ASEMABADI, Z., A. AMIR NADERI, F. ZOLFIGOL, J. MOKHTARI a H. EIVAZ MOHAMMADLOO. Comparative investigation of EDTA and zein polymer presence on hydroxyapatite coating for Mg-based implant application: Electrochemical, microstructure and anti-bacterial properties. *Materials Research Bulletin* [online]. 2024, **174**, 112735. ISSN 00255408. Dostupné z: doi:10.1016/j.materresbull.2024.112735
- [58] *EPI-200-SCT (Skin Corrosion Test) Protocol MK-24-007-0024*

- [59] NETZLAFF, Frank, C.-M. LEHR, P.W. WERTZ a U.F. SCHAEFER. The human epidermis models EpiSkin®, SkinEthic® and EpiDerm®: An evaluation of morphology and their suitability for testing phototoxicity, irritancy, corrosivity, and substance transport. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2005, **60**(2), 167–178. ISSN 09396411. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejpb.2005.03.004
- [60] *EPI-200-SIT (Medical Devices Testing) Protocol_MK-24-007-0121_01_13_2022*
- [61] Test Guideline No. 439: In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Methods. 2021.
- [62] *MK-24-007-0023_EpiDerm Skin Irritation Test_01_19_2021*
- [63] DE JONG, Wim H., Sebastian HOFFMANN, Michelle LEE, Helena KANDÁROVÁ, Christian PELLEVOISIN, Yuji HAISHIMA, Beau ROLLINS, Austin ZDAWCZYK, Jamin WILLOUGHBY, Michael BACHELOR, Timothy SCHATZ, Shelby SKOOG, Sherry PARKER, Anita SAWYER, Paolo PESCIO, Kristina FANT, Kwang-Mahn KIM, Jae Sung KWON, Helge GEHRKE, Hana HOFMAN-HÜTHER, Marisa MELONI, Conrad JULIUS, Damien BRIOTET, Silvia LETASIOVA, Reiko KATO, Atsuko MIYAJIMA, Liset J.J. DE LA FONTEYNE, Christelle VIDEAU, Carine TORNIER, Audrey P. TURLEY, Nicholas CHRISTIANO, Thor S. ROLLINS a Kelly P. COLEMAN. Round robin study to evaluate the reconstructed human epidermis (RhE) model as an in vitro skin irritation test for detection of irritant activity in medical device extracts. *Toxicology in Vitro* [online]. 2018, **50**, 439–449. ISSN 08872333. Dostupné z: doi:10.1016/j.tiv.2018.01.001
- [64] *MATTEK* [online]. B.m.: Mattek a bico company. 2024. Dostupné z: <https://www.mattek.com>

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Příčný průřez kůže s jednotlivými vrstvami: Pokožka, škára a podkožní vazivo „upraveno z [6]“	14
Obrázek 2 Vznik gastruly „upraveno z [9]“	15
Obrázek 3 Stavba pokožky „upraveno z [6]“	16
Obrázek 4 Příklad výrobku dětské kosmetiky obsahujícího neionické PAL (Glyceryl Stearate SE, Glyceryl Stearate Citrate)	23
Obrázek 5 Epikutánní test aplikován na zádech [53]	29
Obrázek 6 Model EpiSkin trojrozměrná rekonstituovaná lidská <i>epidermis</i> [61].	31
Obrázek 7 Rekonstituovaná lidská <i>epidermis</i> , v horní části je model MatTek EpiDerm TM, zatímco v dolní části je model EpiSkin SkinEthic TM RhE [63]	32
Obrázek 8 Test MTT [64]	33
Obrázek 9 Test kompatibility sítě, A) Síťovina bez jakékoliv reakce se zkušebním materiálem B) Síť poškozená, reagovala se zkušebním materiálem [63]	34
Obrázek 10 Použití testovacích chemických látek [58]	34
Obrázek 11 Postup mytí [62]	34

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CMC Kritická micelární koncentrace

ET Epikutánní testy

PAL Povrchové aktivní látky

RhE Rekonstituovaná lidská epidermis

EURL EVCAM Referenční laboratoř Unie pro validaci alternativních metod

EVCAM Evropské centrum pro validaci alternativních metod

OECD Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj

TEWL Transepidermální ztráta vody