

# 3D modely kůže

Vendula Hynečková

---

Bakalářská práce  
2022

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

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

Akademický rok: 2021/2022

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Vendula Hynečková**  
Osobní číslo: **T18723**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**  
Forma studia: **Prezenční**  
Téma práce: **3D modely kůže**

## Zásady pro vypracování

Studentka zpracuje literární řešení zaměřenou na metody testování bezpečnosti kosmetiky, in vitro techniky a přípravu rekonstituovaných tkání. V praktické části se pokusí připravit funkční modely kůže za pomoci dostupných buněčných linií keratinocytů.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] SNUSTAD, D.P., SIMMONS, M.J., RELICHOVÁ, J. et al. Genetika. Brno: Masarykova univerzita, 2009.
- [2] ALBERTS B. et al. Molecular Biology of the Cell 5th ed. Garland Science.
- [3] DAVID A.P. BIZIOS R. Biological Interactions on Material Surfaces. ISBN 978-0-387-98160-4.
- [4] DRAELOS, Zoe Kececioglu a Peter T. PUGLIESE. *Physiology of the skin*. 3rd ed. Carol Stream: Allured Books, c2011, ix, 674 s. ISBN 9781932633771.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Petr Humpolíček, Ph.D.**  
Centrum polymerních materiálů

Datum zadání bakalářské práce: **25. února 2022**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **20. května 2022**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**  
ředitel ústavu

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji 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 samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Předložená bakalářská práce se věnuje 3D modelům kůže. Zabývá se tedy hlavně kůží, její stavbou, funkcemi, složením a vlastnostmi. Dále se zaměřuje na kosmetické přípravky, jejich legislativu a také testování kosmetických přípravků. Blíže pojednává především o neetickém testování kosmetických přípravků, které je prováděno na zvířatech, které je v dnešní době velice nehumánní a z etického hlediska nepřijatelné. Dále se zabývá přechodem na testování na modelech kůže. Jsou zde popsány jak jednodušší modely, tak i ty složitější. Dále se práce zabývá 3D modely kůže, které jsou věrné kopie kůže lidské i jejich jednotlivých vrstev. Jsou zde blíže popsány některé řady komerčně dostupných 3D modelů kůže, které se stále dále vyvíjí.

Klíčová slova: epidermis, kůže, kosmetický přípravek, testování, pokusné zvíře, keratinocyty, modely kůže, 3D modely kůže

## **ABSTRACT**

The bachelor thesis focuses on 3D skin models. It mainly describes human skin, its structure, functions, composition and properties. It also focuses on cosmetics, their legislation and also testing of cosmetics. Much of it is focused on unethical testing of cosmetics, which is performed on animals and it is very inhumane and ethically unacceptable. Attention is also paid to the transition to testing on skin models. The bachelor focuses on simple models but also at models which are really complex. You can also find here informations about 3D skin models which are faithful copies of human skin and their individual layers. Some series of commercially available 3D skin models are described in more detail here.

Keywords: epidermis, skin, cosmetic product, testing, experimental animal, keratinocytes, skin models, 3D skin models

Ráda bych poděkovala vedoucímu práce prof. Ing. Petru Humpolíčkovi, Ph.D. za pomoc s výběrem tématu bakalářské práce. Poděkování patří také mým rodičům, kteří mě po celou dobu studia podporovali.

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

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>11</b>
<b>1 KŮŽE.....</b>	<b>12</b>
1.1 EPIDERMIS.....	12
1.1.1 <i>Stratum basale</i> .....	14
1.1.2 <i>Stratum spinosum</i> .....	15
1.1.3 <i>Stratum granulosum</i> .....	15
1.1.4 <i>Stratum lucidum</i> .....	15
1.1.5 <i>Stratum corneum</i> .....	15
1.2 CORIUM.....	16
1.2.1 Mazové žlázy .....	17
1.2.2 Potní žlázy .....	18
1.2.3 Vlasy .....	18
1.2.4 Nehet .....	20
1.2.5 Kolagen .....	20
1.2.6 Elastin.....	21
1.2.7 <i>Stratum papillum</i> .....	21
1.2.8 <i>Stratum reticulare</i> .....	21
1.3 PODKOŽÍ.....	21
<b>2 KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY .....</b>	<b>22</b>
2.1 LEGISLATIVA.....	22
2.1.1 <i>Nariadení evropského parlamentu a rady (ES) č.1223/2009 o kosmetických přípravcích</i> .....	22
2.1.2 <i>Zákon č.258/200 Sb., o ochraně veřejného zdraví</i> .....	24
2.1.3 <i>Nariadení evropského parlamentu a rady (ES) č.1907/2006</i> .....	24
2.1.4 <i>Zákon č.102/2001 Sb., o obecné bezpečnosti výrobků, v platném znění</i> .....	25
2.1.5 <i>Zákon č.634/1992 Sb., o ochraně spotřebitele, v platném znění</i> .....	25
2.1.6 <i>Zákon 350/2011 Sb., o chemických látkách a chemických směsích</i> .....	25
<b>3 TESTOVÁNÍ KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ NA ZVÍŘATECH .....</b>	<b>26</b>
3.1 OČNÍ TEST (DRAIZŮV).....	26
3.2 TEST KOŽNÍ DRÁŽDIVOSTI .....	27
3.3 TEST AKUTNÍ TOXICITY .....	27
3.3.1 Test LD50.....	28
3.3.2 Test LC50.....	28
3.3.3 Test TD50.....	28
3.3.4 Test TC50.....	29
3.3.5 Test LDLo .....	29
3.4 TEST TERATOGENITY .....	29
3.5 TESTY FOTOTOXICITY A FOTOSENSIBILIZACE .....	29
3.6 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VÝSLEDKY TESTŮ NA POKUSNÝCH ZVÍŘATECH .....	30

<b>4</b>	<b>ALTERNATIVNÍ TESTY KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ</b> .....	<b>31</b>
4.1	TESTOVÁNÍ NA LIDSKÝCH TKÁNÍCH .....	31
4.1.1	Kožní preparát a jeho příprava .....	31
4.2	TESTY <i>IN SILICO</i> – POMOCÍ TECHNOLOGIE NA POČÍTAČI .....	31
4.3	TESTOVÁNÍ NA BUNĚČNÝCH KULTURÁCH .....	32
4.4	TESTOVÁNÍ KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ NA DOBROVOLNÍCÍCH .....	33
4.5	TESTOVÁNÍ KOŽNÍ DRÁŽDIVOSTI <i>IN VITRO</i> .....	34
<b>5</b>	<b>MODELY KŮŽE</b> .....	<b>35</b>
5.1	MEMBRÁNY .....	35
5.1.1	Membrány syntetické .....	35
5.1.3	Membrány lipidové .....	36
5.2	3D MODELY KŮŽE .....	36
5.2.1	3D modely kůže – pouze z lidských komponentů .....	37
5.2.2	3D modely kůže – s obsahem syntetické <i>stratum corneum</i> .....	37
5.2.3	EpiDerm® .....	38
5.2.4	EpiOcular® .....	38
5.2.5	EpiSkin® .....	39
5.3	ROZDÍL MEZI <i>STRATUM CORNEUM</i> LIDSKOU A VE 3D MODELECH.....	40
5.4	ROZDÍL MEZI 2D A 3D MODELY .....	40
5.5	FOTOTYPY .....	41
	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>43</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>44</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>51</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>52</b>



## ÚVOD

3D modely kůže nachází své využití v mnoha odvětvích. Jsou používány pro testování bezpečnosti kosmetických přípravků, chemických látek, v medicíně při testování léků či ve tkáňovém inženýrství. Poslední dobou se 3D modely lidské kůže staly velmi oblíbenou alternativou v testování, avšak se stále vyvíjí.

Pro tvorbu 3D modelů kůže je velmi důležité podrobně znát stavbu lidské kůže. Nejpodstatnější jsou vrstvy epidermis, což je nejsvrchnější část. Neméně důležité je znát složení veškerých jejích vrstev a také funkci kůže. Jedná se o orgán, který pokrývá celé naše tělo. Tvoří bariéru mezi lidským organismem a prostředím, a zároveň je kůže schopna pomocí receptorů přijímat podněty z okolí. Aby nám kůže složila plnohodnotně, je potřeba se o ní dobře starat a volit také vhodnou péči. Na tom, aby kosmetické přípravky kůži neškodily, ale byly pro ni prospěšné, se podílí spousta nařízení a zákonů, které musí kosmetické přípravky splňovat. Nejdůležitější je Nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č.1223/2009 o kosmetických přípravcích, které zahrnuje informace jako je bezpečnost kosmetických přípravků, zákaz či omezení používání některých látek jakožto přísad do kosmetických přípravků. Zahrnuje také definice jednotlivých přísad, požadavky na obal kosmetického přípravku či informace, které se týkají sestavení složení.

S bezpečností kosmetických přípravků se váže téma – testování kosmetických přípravků na zvířatech. V ČR, stejně jako ve všech státech Evropské unie, je testování konečných kosmetických přípravků na pokusných zvířatech zakázáno již od roku 2013, ale ve spoustě jiných zemí stále testování probíhá. Pro testování se nejčastěji využívají myši, potkani, králíci či morčata. Při testování zkoumaných látek zvířatům většinou nebývají podávány žádné látky tlumící bolest. Testovaná látka bývá aplikována na různá místa, výběr místa a způsob aplikace se odvíjí podle druhu testu. Zvíře je následně pozorováno a velmi často dochází kvůli následkům testování k úmrtí zvířete. Z mnoha důvodů je snaha od toho testování na zvířatech postupně ustoupit. *Nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č.1907/2006* se také přiklání přiklání a zároveň schvaluje snížení počtu prováděných testů na pokusných zvířatech a proto je v dnešní době již značné množství alternativ.

Nejprve se začaly více využívat metody testování *in silico*. Jedná se o vyhodnocení bezpečnosti testované látky na základě již získaných informací z testování na pokusných zvířatech. Veškeré výsledky ze starších provedených testování jsou uvedeny v databázi a na základě těchto informací se vyhodnocuje možný účinek látky. Dále se přešlo k používání

kožních preparátů – např. darovaných dobrovolníky po plastické operaci. U kosmetiky je také možnost testovat ji na skupině dobrovolníků.

Co se týká modelů kůže, začalo testování nejprve na jednoduchých buněčných kulturách a poté začaly vznikat jednoduché modely. Často se využívají syntetické, celulózové či lipidové modely, které však nejsou příliš dokonalé. U trojrozměrných modelů kůže se jedná o výrobu různých tkání – např. rohovky, plicního epitelu, nebo kůže. Modely mají pokud možno co nejvíce podobné fyziologické a biochemické vlastnosti jako lidská epidermis. Důležité je napodobení vrstvy *stratum corneum* a také podobnost bariérové funkce.

Dnes již existuje spousta komerčně dostupných 3D modelů kůže. Patří mezi ně např. modely EpiDerm<sup>®</sup>, EpiOcular<sup>®</sup>, EpiSkin<sup>®</sup> nebo např. SkinEthic<sup>®</sup>. Avšak i tyto, již dostupné modely, se stále vyvíjí, aby byly kůži lidské kůži co nejvíce přizpůsobeny.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 KŮŽE

Kůže je orgán, který pokrývá povrch těla a zároveň tvoří hranici mezi prostředím a organismem [1]. Jedná se o největší orgán lidského těla [2]. Kůže je schopna reagovat na vnější podněty jako je chlad, teplo nebo např. tlak [3]. Zabraňuje průchodu cizorodých škodlivých látek a mikroorganismů, reguluje teplotu těla pomocí vazodilatace či vazokonstrikce nebo odpařováním sekretu potních žláz [4]. Mezi další funkce patří např. přenášení stimulů z vnějšího prostředí. Aby byla kůže schopna vykonávat veškeré své funkce plnohodnotně, musí být udržována v dobrém stavu [1]. Mezi její velmi podstatnou vlastnost patří její vysoká elasticita, která je důležitá například v průběhu těhotenství, kdy je potřeba, aby se kůže hodně roztáhla. Její tloušťka se pohybuje v rozmezí od 0,5 mm do 4 mm, přičemž nejtenčí vrstva se nachází na očních víčkách a naopak nejsilnější vrstva na chodidlech a dlaních [4]. U tloušťky kůže samozřejmě záleží také na typu postavy člověka, dále také na věku, pohlaví a nebo stravě. Kůže má přibližnou plochu 1,2 – 2,3 m<sup>2</sup> a zabírá 7–15 % hmotnosti z celkové hmotnosti dospělého jedince [6].

Kůži můžeme rozdělit do tří vrstev. Na povrchu se nachází epidermis, druhou vrstvou je dermis a nejhluběji uloženou vrstvu představuje podkoží [1]. Každá z těchto vrstev má různý stupeň specializace [5]. Pro vědce, kteří se zabývají kosmetikou, je podstatné dobře znát strukturu a funkce kůže [1], jelikož se v mnoha případech zaměřujeme především na biologické funkce kůže a často tak bývá přehlížena její dynamika, do které patří vícesměrné protažení a stlačení, což kůži následně umožní klouzavý pohyb s velmi nízkým třením. Tyto informace mohou být velmi užitečné při vyvíjení a modelování kůže nebo např. ve tkáňovém inženýrství, kdy nesmí být vlastnosti jako elasticita a pružnost kůže opomenuty [5].

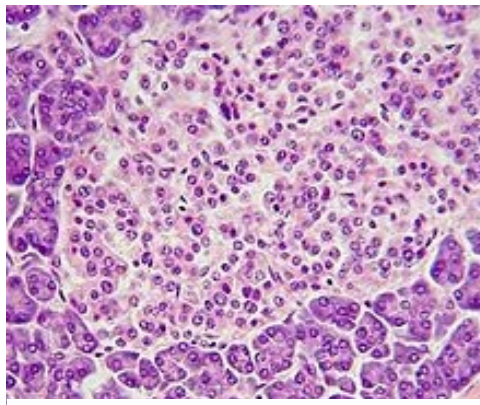
## 1.1 Epidermis

Epidermis neboli pokožka tvoří svrchní vrstvu kůže [1] a ze všech tří vrstev je nejvíce biologicky aktivní díky neustálé obnově vrstvy *stratum basale*. [5]. Její šířka se pohybuje v rozmezí od 0,05mm do 1,5mm a vždy se liší v závislosti na umístění na těle [1]. Původ epidermis je ektodermální a tvoří ji mnohvrstevnatý dlaždicový epitel [4] a neobsahuje cévy [1].

Tuto vrstvu tvoří z velké části proteiny, je zde velké množství keratinocytů – 80-90 %. Hlavní složky tvoří různé druhy kolagenu, proteiny extracelulární matrix, keratiny a buněčné proteiny [5]. Mezi proteiny extracelulární matrix řadíme např. elastin a mezi buněčné proteiny patří aktin, myosin a tubulin. [5]. Keratin je vytvářen keratinocyty a spolu se

složkami lipidové povahy tvoří ochranou bariéru. Keratinocyty produkují také mnoho dalších proteinů jako jsou cytokiny [1]. Epidermis obsahuje také melanocyty, což jsou buňky produkující pigment melanin, který chrání DNA buněk tím, že absorbuje a rozptyluje škodlivé UV záření. Exponované množství UV záření stimuluje produkci melaninu, urychluje jeho přenos do keratinocytů a také ztmavuje ty již existující. Melanin má dále velmi důležitou roli při určování barvy pleti, kdy se podílí na odstínech hnědé až černé barvy, další faktory podílející se na barvě pleti jsou okysličený hemoglobin, který se podílí na červené červených odstínech, dále karoteny způsobující odstíny žluté nebo například exogenní pigmenty a další.

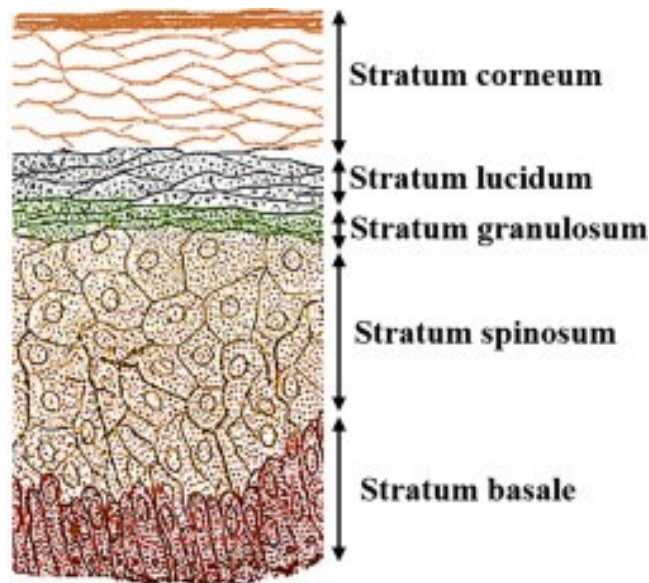
V epidermis se dále nachází Langerhansovy buňky, které se jsou součástí imunitního systému a nebo buňky Merkelovy [5].



Obrázek 1 - Langerhansovy buňky  
[7]

Pokožka se skládá z dalších pěti vrstev. Do těchto vrstev ji dělíme podle různosti stavu keratinocytů. Jedná se o *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum* a *stratum corneum* [1].

Ve spodních vrstvách epidermis nalezneme hlavně cholesterol, triglyceridy a fosfolipidy [1].



Obrázek 2 - Jednotlivé vrstvy epidermis [8]

### 1.1.1 *Stratum basale*

*Stratum basale* neboli bazální membrána tvoří silnou mechanickou bariéru proti patogenům [5] a odděluje od sebe epidermis (pokožku) a dermis (kůži), což znamená, že se jedná o nejspodnější vrstvu pokožky [1]. Přechod mezi epidermis a dermis je naprosto jasný a zřetelný, na rozdíl od přechodu mezi škárkou a podkožím. Bazální membránu tvoří jedna vrstva keratinocytů s velkými jádry a současně je i jejich zdrojem [1, 5]. Buňky v této vrstvě mají tmavou barvu, jelikož se zde také nachází melanin [9].

Tato vrstva obsahuje buňky, které mají cylindrický tvar a jsou zde pouze v jedné vrstvě. Část buněk, které se v bazální membráně nacházejí, proliferoje, což znamená, že dochází k jejich bujení. Jedná se o buňky, které se poté diferencují – dochází k jejich rozlišení, poté procházejí přes epidermis, tlačí se směrem nahoru a stávají se součástí horní vrstvy kůže *stratum corneum*. Tyto buňky se nakonec zploští, odumřou a tzv. deskvamují, což znamená, že dochází k olupování kůže. Buňku, která opustí *stratum basale* čeká přibližně čtrnáct dní dlouhá cesta, než se dostane ke zrohovatělé vrstvě a dalších čtrnáct dní buňce zabere, než se přes tuto vrstvu dostane [9].

Obnova celé epidermis trvá přibližně 42 dnů, pokud je pokožka zcela zdravá [1].

### 1.1.2 *Stratum spinosum*

*Stratum corneum* neboli vrstva ostnitá nese svůj název z toho důvodu, že obsahují buňky, které ve spodní vrstvě nabývají ostnitého tvaru. Tento tvar mají díky obsahu mnoha desmosomů [1,4]. Desmozomy jsou ve vztahu s mezibuněčnými buňkami, které se nachází mezi keratinocyty a jsou velmi důležité tím, že zvyšují odolnost vůči fyzickému napětí kůže. Kromě buněk ostnitého tvaru jsou další buňky různých tvarů, například buňky, které se nachází v horní vrstvě *stratum spinosum* mají spíše plochý tvar a jsou také větší [9]. Tyto buňky nazýváme lamelární granule neboli keratinosomy. Jedná se o tělíška vejcovitého tvaru, která jsou dlouhá asi 100-500 nm a v této vrstvě se přesouvají směrem k okraji buňky a následně jsou posunuty do mezibuněčných prostor [1]. Dále se zde nacházejí Langerhansovy buňky, které vznikají v kostní dřeni a mají hvězdicový tvar a jedná o buňky dendritické, což znamená, že se jedná o buňky imunitního systému [9].

### 1.1.3 *Stratum granulosum*

Tuto vrstvu můžeme znát také pod názvem vrstva zrnitá. Ve většině případů má stejnou šířku jako *stratum corneum*, také je různá v závislosti na umístění na těle. V některých místech může mít pouze jednu vrstvu buněk a v jiných, např. na dlaních a na chodidlech, kde je kůže obecně hrubší, může mít až 10 vrstev [1].

Tato vrstva je tvořena keratinocyty, které mají plošší tvar a nachází se v nich poměrně hodně granulí a lipidů (konkrétně v jejich cytoplazmě). Podstatné je, že membrána keratinocytů je zde tzv. zesíťována, což znamená, že se mění ze své původní podoby na pevnější [10]. Ve vyšší vrstvě jsou buňky o něco více plošší, postupně přichází o své orgány a v tu chvíli přichází buněčná smrt, jelikož přichází i o své jádro [11].

### 1.1.4 *Stratum lucidum*

*Stratum lucidum* se vyskytuje jen na chodidlech a na dlaních člověka, na jiných místech se na těle nevyskytuje. Tvoří jí dvě nebo popřípadě tři vrstvy keratinocytů, které jsou mrtvé a průsvitné [12].

### 1.1.5 *Stratum corneum*

Jedná se o nejsvrchnější vrstvu epidermis. Keratinocyty postupně směrem k povrchu dozrávají a dochází k jejich rohovatění a díky tomuto procesu tvoří tělo bariéru

Melanocyty naopak nekeratinizují čili nerohovatí, ale pouze produkují melanin [5]. Ve *stratum corneum* se nachází korneocyty, což jsou keratinocyty, které neobsahují buněčné jádro a ani cytoplazmatické organely [1], jelikož o ně přišly v průběhu diferenciaci [13].

Korneocyty jsou zploštělé buňky, které jsou velmi bohaté na keratin [2], neustále se odlupují a jsou opět nahrazovány novými buňkami [4]. Obnova pokožky trvá 15 až 30 dní. Jelikož jsou korneocyty zabudovány do organizovaných lipidů, zaručují pružnost a zároveň pevnost pokožky [5].

Struktura *stratum corneum*, která je česky označována jako rohová vrstva, je často přirovnávána k cihlové zdi, kdy korneocyty představují cihly a mezibuněčné lipidy maltu, která je spojuje. Tato vrstva epidermis obsahuje převážně ceramidy, které mají vysoký obsah lipidů, dále volné steroly a volné mastné kyseliny [1].

Lipid tvoří spolu s korneocyty tzv. epidermální bariéru, která má za úkol zamezit pasivní ztráty vody z těla ven a zároveň zamezuje mikrobiálním infekcím vstup do těla. Funkci epidermální bariéry doplňuje tzv. kyselý plášť kožní, který se nachází na povrchu kůže [10].

Kyselý plášť kožní je jakýsi film, který je tvořen mazovými žlázami, potem a pozůstatky korneocytů. Kyselý plášť kožní je spolu se *stratum corneum* nepropustný pro škodlivé látky a slouží jako přirozená ochranná funkce kůže. Jeho pH by se mělo pohybovat v rozmezí 4,5 – 5,5 a velmi podstatné je udržovat jej v pořádku, jelikož je jeho funkce neobnovitelná. Kožní plášť si umíme sami, a to velmi jednoduše, poškodit – ať už například častým mytím nebo častým používáním mýdla. Problém nastává ve chvíli, kdy kyselý plášť kožní narušíme, jelikož je jeho funkce neobnovitelná, v případě narušení dochází k trvalému poškození. Trvalé poškození poté vede k nadměrné suchosti kůže a také ke tvorbě ekzémů [14].

## 1.2 Corium

Pod pokožkou se nachází *corium* (dermis) neboli škůra. Jedná se o velmi prokrvenou [4] a odolnou tkáň, která chrání tělo především před mechanickým poškozením a dodává epidermis potřebnou výživu. Corium obsahuje žilní a cévní systém, systém lymfatický a nervový [1].

Je tvořena proteinovými vlákny a obsahuje glykosaminoglykany (GAG), které jsou schopny zadržovat velké množství vody a také zajišťují pružnost kůže [1]. Proteinová vlákna tvoří



pojivovou tkáň (vazivovou složku), která zaručuje kůži kromě pružnosti také pevnost a napomáhá v tepelné regulaci. Vlákná se zde nachází kolagenová, elastická a retikulínová. Pevnost zajišťují kolagenová, pružnost a soudržnost kůže elastická a retikulínová vlákna vytvářejí síť, která má za úkol stabilizovat vazivovou část šráry.

Mozkomíšní nervová zakončení jsou ve šráře zastoupena hlavně nervovými tělisky neboli smyslovými receptory. Jedná se o skupinu mechanoreceptorů a patří zde Vater-Paciniho receptory, pomocí kterých je vnímán tlak a vibrace, dále Meissnerovy receptory vnímající jemné čítí(doteky) a Merkelovy receptory, které také umožňují čítit jemné povrchové čítí.

Vegetativní nervová vlákna ovlivňují hlavně funkci potních žláz, dále regulují vazokonstrikci (stažení cév) a vazodilataci (rozšíření cév) a stahy vzpřimovače vlasu. Zde patří termoreceptory, mezi které řadíme Ruffiniho receptory – receptory tepla a Krauseho receptory – receptory, chladu [14].

Nalezneme zde také kožní adnexa – mazové žlázy, potní žlázy, vlasy(chlupy) a patří zde také nehty [4].

### 1.2.1 Mazové žlázy

Mazové žlázy ústí do vlasového folikulu a dohromady s ním tvoří tzv. pilosebaceozní jednotku [1]. Vyskytují se hlavně v tzv. seboreické lokalizaci, která se nachází na obličejí – nos, brada, čelo, dále v oblasti hrudníku a zad. Mazové žlázy naopak chybí na dlaních a na chodidlech. Jedná se o žlázy holokrinní, což znamená, že produkují sekret – maz neboli *sebum*. Sekreční aktivita mazových žláz je v těle regulovaná pomocí hormonů – konkrétně estrogenů a androgenů. Estrogeny tlumí sekreční činnost, zatímco androgeny ji naopak stimuluji. Zajímavým příkladem mazových žláz jsou Meibomovy a Tysonovy žlázy. Ani jedny z těchto žláz totiž nejsou vázány na vlas (chlup).

Meibomovy mazové žlázy se nachází na očních víčkách a kolem prsních bradavek. Tysonovy mazové žlázy jsou lokalizované na červení rtů a u mužů na *prepuciu* – předkožce [14].

### 1.2.2 Potní žlázy

Potní žlázy dělíme na ekrinní a apokrinní. [1].

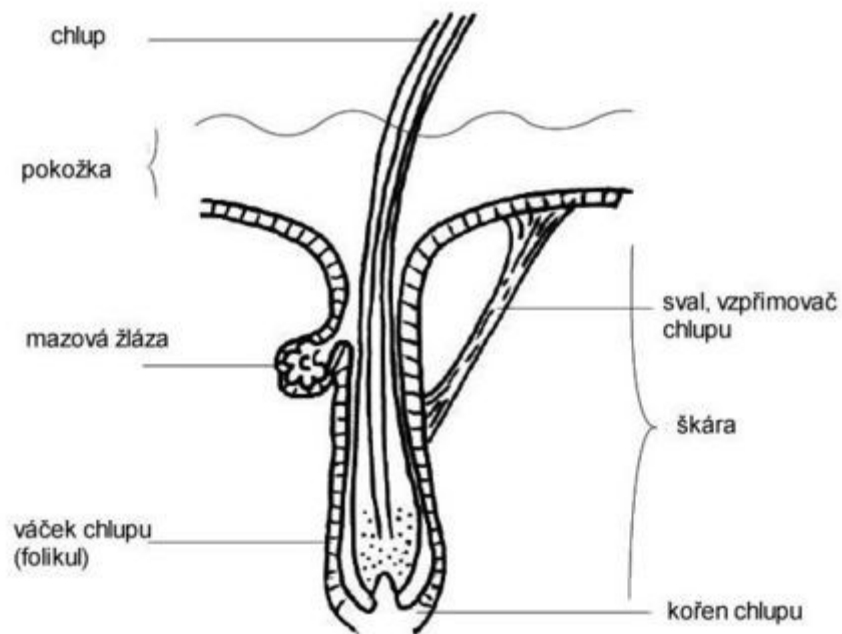
Ekrinní žlázy neboli malé potní žlázy se vyskytují skoro na celém povrchu našeho těla, výjimkou je např. hřbet ruky nebo červeň rtů. Četnější jsou na dlaních a taky na chodidlech. Tyto žlázy jsou na těle již od narození a jsou velmi důležité, jelikož jejich sekret (pot) vytváří dohromady s kožním mazem emulzi v/o a tato emulze vytváří již dříve zmíněný kyselý plášť kožní. Tyto žlázy jsou poměrně drobné, jsou tvořeny kanálkem, který je stočený do klubíčka a na povrch ústí potním pórem. Denní sekrece ekrinních žláz hodně záleží na fyzické aktivitě člověka, ale v průměru se pohybuje okolo 500ml.

Apokrinní žlázy neboli velké potní žlázy se vyskytují v podpaží, v okolí prsních bradavek, dále potom na genitálu a v okolí konečníku. Jejich stavba je v podstatě stejná jako u žláz ekrinních. Apokrinní žlázy také produkují sekret a ten obsahuje jak bílkovinné, tak i tukové látky. Mikroorganismy tyto látky poté rozkládají, a proto vzniká zápach. Apokrinní žlázy patří mezi druhotné pohlavní znaky, co znamená, že jsou aktivní až od puberty (díky působení hormonů). A na rozdíl od ekrinních žláz ústí do vlasového folikulu.

### 1.2.3 Vlasy

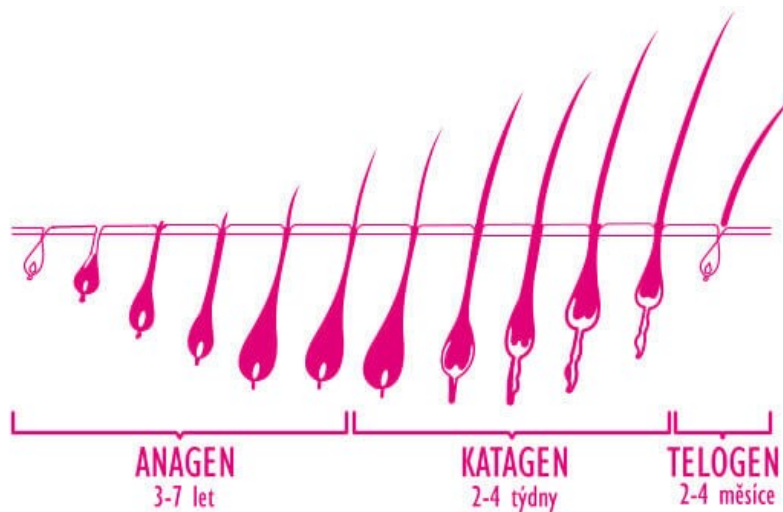
Vlasy neboli pili vyrůstají z vlasového folikulu, ve kterém jsou uloženy. Folikul je v podstatě vchlípenina epidermis, která je situovaná ve škáře. Vlasy vyrůstají z vlasové cibulky, která nasedá na vlasovou papilu a do té vstupují krevní kapiláry a nervová vlákna. Kořen vlasu má jeden vazivový a dva epitelové obaly, dále je zde samotný vlas (=část nad pokožkou). Vlas je složen z kůry, dřene a kutikuly. Ve spodní části folikulu je k vlasu připojený hladký sval, který se nazývá vzpřimovač vlasu (*Musculus arrector pili*) s při stažení tohoto svalu dochází ke vzpřimování vlasu a na povrchu kůže se vytvoří tzv. husí kůže (*Cutis anserina*).

Vše dohromady – tedy celý komplex folikulu a k němu připojené mazové žlázy a také vzpřimovače vlasu, tvoří tzv. pilosebaceozní jednotku. Průměrný počet vlasů je přibližně 100 000. Důležitá je také barva vlasu, která je dána melaninem, jež se tvoří v melanocytech vlasového folikulu. Během stárnutí postupně vlasy šediví. K tomuto jevu dochází z důvodu úbytku množství pigmentu a mezi dřemí a kůrou se vytvoří vzduchové bublinky [14].



Obrázek 3 - Stavba vlasu [15]

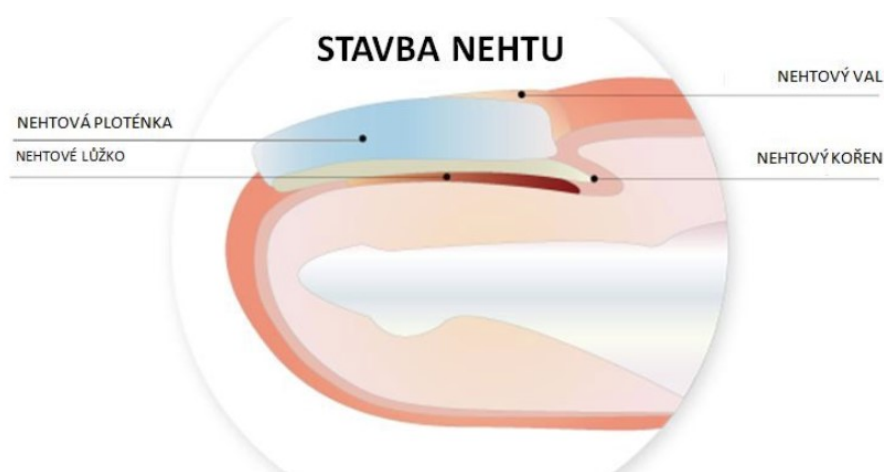
Vlas má tři růstové fáze, kterými během svého růstu postupně prochází. Jedná se o anagenní fázi (růstová), katagenní fázi (přechodná) a fázi telogenní (klidová a výpadová). Největší počet vlasů se nachází vždy v anagenní fázi, a naopak nejmenší počet vlasů v katagenní fázi. Anagenní fáze růstu vlasu trvá několik let a vlas u zdravého jedince vyrostle denně přibližně asi o 0,2 – 0,5 milimetrů [14].



Obrázek 4 - Růstové fáze vlasu [16]

### 1.2.4 Nehet

Nehet tvoří nehtová ploténka, která se skládá z tvrdé rohoviny – konkrétně z keratinu. Nehtová ploténka vyrůstá z tzv. nehtové matrix a z ní se dále pomalu posunuje a po nehtovém lůžku. Nehtové lůžko má po svých bocích ohraničení, nachází se zde nehtové valy. Před zadním nehtovým valem je většinou jasně viditelná bělavá skvrna, která je ve tvaru srpku nebo půlměsíce a nazývá se *lunula*. Nehet nemá na rozdíl od vlasu žádné druhy růstových fází, jelikož roste neustále a konstantní rychlostí [14].



Obrázek 5 - Stavba nehtu [17]

Velmi důležitou složkou dermis jsou fibroblasty, které jsou mezenchymálního původu. V těle dospělého jedince přispívají k udržení homeostázi kůže a také se podílejí na např. hojení ran. Fibroblasty produkují různá vlákna. Primárně produkují složky extracelulární matrix a dále taky kolagen [18].

### 1.2.5 Kolagen

Kolagen se v dermis nachází v podobě kolagenových vláken a ta zajišťují pevnost pokožky. Tato vlákna, která obklopují pilosebaceousní jednotky a ekrinní a apokrinní žlázy, jsou uspořádána do tenké sítě [1]. Tyto vlákna se mísí za pomoci dalších prvků šikry s podkožím a tím vzniká nejasná hranice mezi těmito dvěma vrstvami [5]. V těle se nachází více druhů kolagenu – např. kolagen typu I spolu se stárnutím lidské kůže postupně v těle ubývá, i proto je kůže s přibývajícím věkem méně pevná. Zvyšuje se křehkost kůže a také se hůř hojí různé poranění a rány [19].

### 1.2.6 Elastin

V menším množství se zde nachází také elastická vlákna, která jsou velmi odolná. Směrem k povrchu kůže se tato vlákna postupně ztenčují. Součástí elastinu je aminokyselina Desmosin [1].

Dermis obsahuje dvě odlišné vrstvy – *stratum papilum* a *stratum reticulare* [5].

### 1.2.7 *Stratum papilum*

*Stratum papilare* neboli papilární dermis tvoří povrchovou část škůry. Je tvořena zejména fibroblasty, které vytváří linie. Obsahuje kolagenová vlákna menšího průměru, která jsou proložena vlákny elastickými. Tato vrstva z dermis vybíhá směrem k povrchu těla do epidermis v podobě papil. V této vrstvě se nachází již dříve zmíněná nervová zakončení [5].

### 1.2.8 *Stratum reticulare*

Retikulární vrstva je uložena hlouběji, pod papilární vrstvou dermis. Stejně jako papilární vrstva je tvořena kolagenovými vlákny, které mají tentokrát ovšem větší průměr a tvoří velké propletené svazky spolu s elastickými vlákny [5].

## 1.3 Podkoží

Třetí vrstvou pokožky, známou také pod názvem hypodermis, je podkoží. Ze všech tří vrstev kůže je podkožní vazivo uloženo nejhlouběji [3]. Tato vrstva obsahuje velké množství GAG, které do tkáně přivádí tekutinu [5]. Skládá se z podkožní tkáně, která obsahuje především tukové buňky, fibroblasty a makrofágy [2]. Hlavní funkce podkoží je izolace těla vůči ztrátě tepla [3] a ochrana pokožky. Její tloušťka je různá a závisí na umístění na těle, pohlaví a výživě. Největší vrstvu podkoží nalezneme obecně na hýždích [5].

## 2 KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY

Kosmetické přípravky jsou předmětem každodenního použití. Veškeré kosmetické přípravky a výrobky tedy podléhají celé řadě norem, kterými se musí řídit, aby byly bezpečné, mohly být uváděny na trh a následně mohly být prodávány.

### 2.1 Legislativa

#### 2.1.1 *Nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č.1223/2009 o kosmetických přípravcích*

Základní právní předpis týkající se kosmetických přípravků je *Nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č.1223/2009 o kosmetických přípravcích*. Toto nařízení je platné od roku 2009, ale účinnosti nabylo až v roce 2013. Důvodem vydání tohoto jednotného nařízení, které platí pro veškeré státy Evropské unie byla zastaralá kosmetická směrnice, která byla kvůli stálému rozšiřování a podstatným změnám velmi nepřehledná [20].

V tomto nařízení je uvedeno, že: „kosmetický přípravek je jakákoliv látka nebo směs určena pro styk s vnějšími částmi lidského těla (pokožkou, vlasovým systémem, nehty, rty, vnějšími pohlavními orgány) nebo se zuby a sliznicemi ústní dutiny, výhradně nebo převážně za účelem jejich čištění, parfemace, změny jejich vzhledu, jejich ochrany, udržování v dobrém stavu nebo úpravy tělesných pachů.“

Kosmetický přípravek dle tohoto nařízení neléčí, není určen k polykání, inhalování, popřípadě ke vpichování. Velmi častá chyba je také zavádějící označení některých kosmetických přípravků jako tzv. „léčebná kosmetika“ – v tomto případě se již nejedná o kosmetiku, ale o léčivo, jelikož kosmetice nesmíme přisuzovat léčebné účinky.

Nařízení obsahuje v kapitole číslo jedna definice jednotlivých přísad, jako je např. nanomateriál, barvivo, konzervační přísada nebo filtr UV záření.

Kapitola číslo dva se zabývá bezpečností, odpovědností a také volným pohybem zboží na trhu. Nalezneme zde jak definice výrobce kosmetiky, distributora, dovozce a odpovědné osoby tak i informace o například dříve zmíněném volném pohybu na trhu. Tento volný pohyb zboží na trhu se týká pouze zemí, které jsou součástí Evropské unie, jelikož jsou v těchto zemích pro kosmetické přípravky jednotná pravidla.

Kapitola číslo tři je neméně důležitou součástí tohoto nařízení, jelikož v ní najdeme například informační dokumentaci přípravku, posouzení bezpečnosti, a nebo informace o

oznamovací povinnosti. Článek číslo deset, ve kterém se dočteme informace o posouzení bezpečnosti, nám sděluje, že u každého kosmetického přípravku musí být provedeno posouzení bezpečnosti a musí být vypracována také Zpráva o bezpečnosti kosmetického přípravku. Zprávu musí provést a podepsat pouze dostatečně kvalifikovaná osoba – je tedy potřebná kvalifikace v oborech jako jsou přírodní vědy, farmacie, lékařství, toxikologie atd. Toto všechno musí být provedeno předtím, než je přípravek uveden na trh.

Článek číslo jedenáct nám podává veškeré náležitosti týkající se informační dokumentace kosmetických přípravků. Jedná se v podstatě o soubor dokumentů, který musí odpovědná osoba uchovávat ještě deset let od uvedení poslední šarže přípravku na trh. Dokumentace musí obsahovat popis přípravku, zprávu o jeho bezpečnosti, popis výrobní metody a prohlášení o dodržení správné výrobní praxe, důkaz o udávaném účinku přípravku (např. má krém vyhlazovat vrásky, musí být tento účinek podložen) a v neposlední řadě také údaje o jakýchkoliv zkouškách na zvířatech.

Kapitola číslo čtyři nás seznamuje s omezeními, která platí pro některé látky. Naprosto zakázány jsou takzvané CMR látky. Jedná se o látky karcinogenní, mutagenní a reprodukčně toxické. Pro velkou řadu dalších látek platí přísná omezení – tyto látky poté nalezneme v přílohách nařízení. Například kyselina boritá může být v kosmetickém přípravku obsažena pouze tři procentní, pokud je použita silnější, jedná se již o léčivo.

Další kapitola se zabývá zkouškami prováděnými na zvířatech, které jsou na konečných kosmetických přípravcích zakázány již od roku 2013. Přípravky mohou být testovány na dobrovolnících a nebo na 3D modelech lidské kůže.

V další kapitole nalezneme data potřebné pro spotřebitele. Konkrétně informace týkající se označování přípravku. Musí být uvedeno jméno a také adresa odpovědné osoby, číslo výrobní šarže, funkce přípravku, jmenovitý obsah v gramech nebo mililitrech, kdy musí být jednotlivé ingredience vypsány za sebou podle jejich procentuálního zastoupení. Toto zastoupení je vždy v pořadí od složky, které je v daném kosmetickém přípravku nejvíce, až po složku, která se v přípravku nachází v nejmenším množství. V případě, že jsou jednotlivé ingredience zastoupeny v menším množství, než je 1 %, může být pořadí těchto ingrediencí náhodné. Dále musí být na obalu přípravku uvedeno datum minimální trvanlivosti vyjádřeno slovy „spotřebujte do...“, nebo grafickým symbolem – otevřeným kelímkem.

Pokud je doba trvanlivosti přípravku do 30 měsíců od výroby, je trvanlivost vyjádřena slovně, popřípadě přesýpacími hodinami společně s datem. V případě, že je doba trvanlivosti

delší než 30 měsíců od výroby používáme metodu kelímku, kde je vždy číslem zaznačen údaj v měsících a značí dobu, po kterou je kosmetický přípravek po otevření bezpečný pro použití.

Mezi další informace obsažené v tomto nařízení patří, že veškeré složky kosmetického přípravku musí být na obalu napsány formou mezinárodního názvosloví, které se nazývá International Nomenclature of Cosmetics Ingredients – zkráceně INCI, což je v překladu Mezinárodní nomenklatura kosmetických přísad [21].

### ***2.1.2 Zákon č.258/200 Sb., o ochraně veřejného zdraví***

Zákon o ochraně veřejného zdraví se nezabývá pouze kosmetickými přípravky, pro ně platí pouze díl č.5 tohoto zákona. V této části se nachází hygienické požadavky na předměty běžného užívání, proto tedy platí i pro kosmetické přípravky. Konkrétně paragraf číslo 27 nařizuje, že etiketa kosmetického přípravku musí být psána v českém jazyce. Dále se tento paragraf týká například bezobalové stáčené kosmetiky. Veškeré informace týkající se takto prodávaných přípravků musí mít prodávající v místě prodeje a je povinen tyto informace zákazníkovi předat [22].

### ***2.1.3 Nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č.1907/2006***

Jedná se zkráceně o nařízení REACH, které se zabývá registrací, evaluací neboli hodnocením a autorizací chemických látek. Toto nařízení se netýká konečných kosmetických přípravků, nýbrž jakékoliv suroviny, která je pro výrobu kosmetického přípravku použita a obecně se týká veškerých chemických látek, které každodenně používáme.

Toto nařízení říká, že by měly být vyrobeny takové látky, které nepoškodí zdraví či životní prostředí. Toto se netýká jen výroby látek, ale také dovozu látek nebo uvádění na trh. Veškeré informace, které jsou o chemických látkách v nařízení REACH obsaženy by měly být použity za účelem při stanovení možné nebezpečnosti látek. Cíl tohoto nařízení je takový, aby se předešlo špatným účinkům na lidské zdraví.

Chemické látky jsou registrovány proto, aby se předešlo případným rizikům. Spolu s registrací je vždy nutné vypsát dokumenty, které obsahují veškeré potřebné informace o chemické látce. Pro povolení uvedení látky na trh je nutné povolení komise. Pokud se u chemické látky vyskytují nějaká rizika, byť jen malá, musí být prováděny kontroly. Některé chemické látky mohou být úplně zakázány, a nebo může být jejich použití omezeno. Pokud



je ve spojitosti s používáním látky zjištěno nějaké riziko, je nutné dokázat, že tato látka může být bezpečně používána. Musí být také určena opatření, aby nedošlo k šíření rizik.

Cíl nařízení REACH je vylepšit ochranu lidského zdraví a taky životního prostředí, proto jsou rizika chemických látek hlídána a kontrolována. Toto nařízení taky schvaluje a příklání se ke snížení počtu prováděných testů na pokusných zvířatech [23].

#### ***2.1.4 Zákon č.102/2001 Sb., o obecné bezpečnosti výrobků, v platném znění***

Jedná se o velmi důležitý zákon, jelikož platí nejen pro kosmetické přípravky, ale pro naprosto všechny výrobky. Často se výrobky nachází na jakési hranici s kosmetickým přípravkem, a nebo také existují takové, které neřadíme do žádné skupiny – například permanentní make-up, který není ani kosmetický přípravek ani léčivo, ale podle tohoto zákona musí být bezpečný [24].

#### ***2.1.5 Zákon č.634/1992 Sb., o ochraně spotřebitele, v platném znění***

Týká se jak kosmetických přípravků, tak i veškerých ostatních výrobků na trhu. Sděluje spotřebiteli, jaké jsou jeho práva a zároveň i povinnosti v případě, že si koupí, podle něj, závadný kosmetický přípravek [25].

#### ***2.1.6 Zákon 350/2011 Sb., o chemických látkách a chemických směsích***

Zkráceně se tento zákon často nazývá jako zákon chemický. Opět se netýká pouze kosmetických přípravků, ale veškerých chemických látek a směsí. Zákon udává, že do výroby vstupují pouze takové látky, které jsou identifikované a registrované. Musí být naprosto jasné a dohledatelné, z jakých surovin výrobce kosmetiku vyrábí [26].

### 3 TESTOVÁNÍ KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ NA ZVÍŘATECH

V České republice je sice testování kosmetických přípravků na zvířatech zakázáno, ale jedná se pouze o koncové přípravky, tudíž jednotlivé suroviny a součásti kosmetických přípravků na zvířatech být testovány stále mohou. [9]. Jedná se ovšem o způsob, který není velmi spolehlivý. Výsledky nemusí být přesné, jelikož např. stavba pokožky zvířat je jiná než lidská, kůže zvířat může na testovanou látku reagovat jinak než kůže lidská. Často se k testování kosmetiky využívají potkani, myši, králíci a nebo morčata [27].

#### 3.1 Oční test (Draizův)

Velmi často prováděný test je například test oční dráždivosti neboli Draizův oční test, který je poměrně starý, nicméně se ale i dnes stále využívá. Látka se pokusnému zvířeti aplikuje přímo do oka a následně se pozoruje akutní dráždivost této látky.

Na tento typ testu se nejčastěji využívají králíci, kterým se látka aplikuje pouze do jednoho oka a druhé oko následně slouží pro srovnání. Králíci jsou k tomuto pokusu využíváni z toho důvodu, že jejich oči tvoří pouze malé množství slz, které je menší než u lidského oka. Tím pádem je zde menší šance, že se králíkovi vyplaví z oka zkoumaná látka.

V průběhu provádění testu se oko zakalí, začervená, je podrážděné a velmi často je oteklé i víčko. Mohou se objevit vředy, které často doprovází krvácení a mokvání. Není vyloučeno, že může dojít ke slepotě zvířete. Zvířatům také nejsou podávány v průběhu testu žádné prostředky, které by tišily bolest. Králíci, kteří jsou využíváni pro pokus, jsou tedy naprosto při vědomí, jen jsou pro účely pokusu znehybněni.

Problémem u tohoto testu je fakt, že není velmi přesný, jelikož mezi lidským okem a králíčím okem jsou rozdíly. Jeden z největších rozdílů je již dříve uvedený fakt, že oko králíka vyprodukuje daleko menší množství slz než oko lidské a další rozdíl je například ten, že králíci na rozdíl od člověka nemají mrkací reflex, tím pádem se může iritace očí u králíka a u člověka výrazně lišit [27].



Obrázek 6 - Test oční dráždivosti [28]

### 3.2 Test kožní dráždivosti

Králíci se dále také využívají na test kožní dráždivosti, který slouží k tomu, abychom mohli stanovit, jak moc je látka, která je aplikována na kůži, agresivní vůči pokožce. Test vyžaduje oholení srsti, na kterou se následně látka aplikuje. Depilace se provádí 24 hodin před aplikací látky, která se poté aplikuje nejčastěji na oblast zad zvířete. Často bývá také pokusné zvíře zbaveno horní vrstvy pokožky. Zkoumaná látka je aplikována a dále se v časových intervalech kontroluje podráždění. Látka se zvířeti dostává do krve a postupně mohou vznikat otoky, začervenání, dále popraskání kůže, vznikající vředy či ošklivé záněty kůže. Opět platí, že zvířatům nejsou poskytovány žádné prostředky, které by sloužily k tišení bolesti [27].

K tomuto testu mohou být kromě králíků využívána také morčata, nicméně v obou případech platí, že se pokožka těchto zvířat liší od pokožky lidské, a tím pádem jsou výsledky testů opět poměrně nespolehlivé [29].



Obrázek 7 - Test kožní dráždivosti [30]

### 3.3 Test akutní toxicity

Dále se provádí test akutní toxicity, na který se nejčastěji využívají potkani, kterým může být testovaná látka podána více způsoby – orálně, pomocí injekce a nebo inhalačně.

Bolest tišící přípravky opět zvířeti nejsou podávány. Testovaná látka se aplikuje ve velmi velkém množství a následně může docházet ke ztrátě váhy, poškození vnitřních orgánů, krvácení, k paralýze, k poruchám dýchání nebo např. krvácení z očí.

Zvířata, která jsou testu podrobena, jsou poté nějakou dobu sledována a jsou pozorovány veškeré již dříve zmíněné projevy otravy. Velmi často také dochází k tomu, že tato zvířata

během testu uhynou. Pokud se stane, že zvíře neuhyne, je na konci testu usmrcenou a je poté provedena pitva [27].

U akutních testů se účinky projevují v poměrně krátké době – nejpozději do dvou týdnů po podání látky.

U testů na akutní toxicitu používáme toxikologické indexy. Jedná se o veličiny, které charakterizují, jak moc jsou chemické látky toxické ve vztahu k biologickému objektu, na který působí. Tímto biologickým objektem jsou pokusná zvířata, na kterých se testy provádí. Některé z těchto testů jsou např. test LD50, LC50, TD50, TC50 nebo třeba LDLo [31].

### 3.3.1 Test LD50

Jeden z nejhorších a velmi drastických testů je test se zkratkou LD50 – celým názvem Lethal Dose 50 %. Jedná se o test toxicity na celé tělo. K testování jsou opět využíváni potkani a také myši, ale kromě nich se u tohoto testu často používají i kočky nebo psi. Zkoumaná látka je zvířatům podávána a její množství se stále zvyšuje – tak dlouho, dokud látka neusmrtí polovinu zvířat z celé testované skupiny. U tohoto testu jde o to, aby bylo v závěru určeno přesné množství zkoumané látky, která usmrtila polovinu zvířat, jež byly pro test LD50 použity. Spolehlivost tohoto testu ale také není příliš vysoká [29]. Výsledky tohoto testu se uvádí v jednotkách [mg/kg]. V miligramech je uvedena dávka zkoumané látky a v kilogramech je uvedena hmotnost zvířete. Jako zkoumaná látka může být použita jak látka v pevném skupenství, tak i látka v kapalném skupenství [31].

### 3.3.2 Test LC50

Tento test označuje smrtelnou koncentraci zkoumané látky, při které opět uhynie polovina pokusných zvířat z testované skupiny. Test se používá při zkoumání plynných látek, par nebo aerosolu a zvířata zkoumanou chemickou látkou vdechují. Výsledek testu se poté uvádí v jednotkách [mg·m<sup>3</sup>] [31].

### 3.3.3 Test TD50

Tento test se používá, abychom zjistili, jaké množství zkoumané látky vyvolá toxickou reakci u poloviny pokusných zvířat z testované skupiny. Zde k zapsání výsledku používáme jednotky [mg/kg]. Opět se jedná o miligram podávané zkoumané látky a kilogramy se týkají hmotnosti zvířete [31].

### 3.3.4 Test TC50

U tohoto druhu testu se zjišťuje toxická koncentrace zkoumané látky ve vdechovaném vzduchu, při které se projeví toxicita u poloviny pokusných zvířat z testované skupiny. Koncentrace se uvádí v jednotkách [mg/m<sup>3</sup>] [31].

### 3.3.5 Test LDLo

Zde jde o určení nejnižší dávky zkoumané chemické látky, při které dojde k úhynu pokusného zvířete [31].

Kromě akutních testů existují také subakutní testy a nebo testy chronické. U subakutních testů se účinek zkoumané chemické látky projeví přibližně 28-90 dnů po podání látky. Pokusná zvířata jsou vystavena působení látky o nízké koncentraci na krátký čas a neobjevují se žádné akutní příznaky. U testů chronických je pokusné zvíře vystaveno testované látce po celou dobu trvání testu.

## 3.4 Test teratogenity

Test teratogenity je velmi důležitý např. pro těhotné ženy. Pokud je totiž látka teratogenní neboli karcinogenní, má negativní účinky na plod neboli embryo, které se vyvíjí. Testované látky se podávají samicím, které jsou březí. Jsou podávány hlodavcům jako jsou myši nebo potkani. Látka je opět podávána inhalačně, pomocí injekce nebo orálně. Velmi častý způsob je orální podání do žaludku pokusného zvířete. Zkoumaná látka je zvířatům podávána přibližně po dobu deseti dnů. Pokud samičky potratí, jsou usmrceny a z jejich těla je vyoperován plod, který složí k vyhodnocení tohoto testu. Jsou na něm pozorovány změny, které se týkají reprodukce a vývoje plodu, také se hledají známky nádorů a zvláštního chování buněk, zkoumá se také placenta samičky či další vzniklé anomálie. [27].

## 3.5 Testy fototoxicity a fotosensibilizace

Mezi další poměrně hojně prováděné testy patří fototoxicita a fotosensibilizace. Jedná se o reakce kůže na látky, kdy k této reakci dochází při působení světla. Často jsou pro tyto testy používány myši, potkani, králíci, a nebo také malá prasátka [27].

### 3.6 Faktory ovlivňující výsledky testů na pokusných zvířatech

Jeden z velmi důležitých faktorů je způsob ustájení zvířete. Důležité je v prostoru udržovat stálou teplotu i vlhkost, dále taky režim světla a tmy. Další z faktorů je např. doba aklimatizace pokusného zvířete před začátkem pokusu. Neméně podstatným faktorem je zdraví zvířete, nutná je tedy zdravotní prohlídka před provedením pokusu. Je podstatné zjistit zdravotní stav zvířete, případně jeho onemocnění – zvíře může být léčeno farmaky a to může velmi ovlivnit výsledek pokusu. Další z faktorů je čistota a kvalita krmiva a taktéž pitné vody. S čistotou se váže také pravidelná výměna podestýlky [31].

Velký problém v testování na pokusných zvířatech je ten, že se nejedná o velmi přesný způsob. To samé platí i v případě spousty dalších testů, zvířata nemají zcela stejnou kůži jako lidé, pouze podobnou. Neznamená to ale, že látka, která dráždí zvíře, bude člověka dráždit úplně stejně. Mohou zde být velké odchylky a rozdíly, a právě také z tohoto důvodu se pomalu a postupně přechází na provádění alternativních testů kosmetických přípravků [27].

## 4 ALTERNATIVNÍ TESTY KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ

Z mnoha uvedených důvodů se postupně upouští od testování kosmetických přípravků na zvířatech a spolu s tím přichází přechod na metody testování, které nejsou takto drastické a nehumánní. Často jsou tyto metody také finančně méně nákladné. Jedná se o metody, které se nazývají tzv. *in vitro* a řadíme zde jak buněčné kultury, tak lidské tkáně. Další používané metody jsou metody *in silico* – jedná se o počítačové a matematické modely. Další z možností je také testování kosmetických přípravků na dobrovolnících [32].

### 4.1 Testování na lidských tkáních

Lidské tkáně, na kterých se provádí testování kosmetických přípravků bývají darovány dobrovolníky. Nejčastěji k takovému darování lidské tkáně dochází při plastických operacích – například při odebírání přebytečné kůže, nebo např. po transplantaci. Tyto tkáně od dobrovolníků jsou velmi důležité, jelikož se jedná o lidskou tkáň a nejsou zde žádné rozdíly, jako například mezi tkání testovaného zvířete a tkání lidskou [32]. Podstatné je, že při testování na lidských tkáních musí dárci tkáně podepsat informovaný souhlas, aby mohla být jeho tkáň využita v experimentech [33].

#### 4.1.1 Kožní preparát a jeho příprava

Nejprve je nutné provést extrakci kožního preparátu. Zde může být použito mnoho postupů. Preparát může být odebrán např. tepelně, mechanicky, chemicky nebo také enzymatickým způsobem. Nejvhodnější postup pro extrakci preparátu je vybrán podle zvolené šířky preparátu. Záleží tedy na tom, jaký kožní preparát se chystáme připravit. Pokud se jedná o přípravu kožního preparátu, který má vrstvu *stratum corneum*, je vhodné použít enzymatickou nebo tepelnou metodu extrakce. Pokud bychom ale chtěli připravit preparát s obsahem veškerých vrstev pokožky, je nejvhodnější použít mechanickou metodu – použití skalpelu. Každý experiment musí mít vždy protokol, ve kterém nalezneme všechny podstatné informace, jako např. důvod zvolené techniky na extrakci kožního preparátu [34].

### 4.2 Testy *in silico* – pomocí technologie na počítači

V dnešní době moderní technologie je možné u spousty látek odhadnout a předpovědět, jak by tyto látky působily na lidský organismus. Výsledky mnoha testování, které bylo prováděno na zvířatech, můžeme najít v databázích a dle těchto výsledků jsme často schopni

odvodit, jaký efekt by mohla mít látka na lidský organismus. Jedná se pouze o předpovědi, ale je nutné říci, že jsou poměrně přesné. Na počítači se porovnávají informace o v minulosti již zkoumaných látkách a srovnávají se s látkou, která je teprve určena k testování. Díky databázi, která je plná výsledků předchozích testování, je následně možné odhadnout reakci organismu [35].

### 4.3 Testování na buněčných kulturách

Jedná se o metodu testování kosmetických přípravků, která je prováděna v laboratoři. V dnešní době je již možné uměle vypěstovat lidské a nebo zvířecí buňky. Velmi často se toto provádí pomocí 3D struktur, kdy už dnes není problém ani vytvoření podoby lidských orgánů, na kterých je poté možné testovat kosmetické přípravky. Tato forma testování a její rozvoj je velmi důležitý nejen pro testování kosmetických přípravků, ale taky např. pro testování různých léků [32].



Obrázek 8 - Testování na buněčných kulturách [36]

#### 4.3.1 Testy cytotoxicity

Můžeme zde zařadit tzv. testy cytotoxicity (toxicita vůči buňkám). V laboratoři využíváme buněčné kultury – linie a testy jsou prováděny metodou *in vitro*. Pracujeme zde s předpokladem, že látka, která bude toxická vůči buňkám, by měla také minimálně dráždivý efekt na lidské kůži, případně na očích či sliznici. Tyto testy se vyhodnocují následovně – sleduje se velikost oblasti poškozených a mrtvých buněk. Tuto oblast lze rozeznat podle barevné změny, která je způsobena buď ztrátou barviva, které jsme předtím buňkám aplikovali, nebo jsou buňky natolik poškozené, že jejich membrány nejsou schopny



transportovat barvivo. Barvivo mohou jak transportovat, tak i uchovávat pouze ty buňky, které jsou životaschopné.

U těchto typů testů se často využívá **zkouška uvolnění neutrální červeně**. Při tomto testu dochází k narušení a poškození buněčné membrány. Ve chvíli, kdy nastane toxický účinek testované látky, nastane únik intracelulárního obsahu buňky. Postup při testu cytotoxicity je následující. Buňky jsou nejprve obarveny neutrální červení a následně je aplikována testovaná látka, které jsou buňky vystaveny. Test vyhodnocujeme podle toho, jak velké množství barviva bylo uvolněno z buněk. Čím větší množství, tím větší stupeň poškození membrány nastal v průběhu testu. Vyhodnocení následně provádíme pomocí spektrofotometru.

Provádí se také zkouška **příjmu neutrální červeně**, při které se naopak měří množství přijatého barviva. Toto barvivo musí proniknout dovnitř do buňky skrz membránu a musí se nahromadit v živých buňkách. Buňky jsou vystaveny působení zkoumané látky, poté se buňky obarví neutrální červení a vyhodnocení je zde následující – na základě příjmu barviva vyhodnotíme poškození buněčné kultury. Vyhodnocení testu provádíme opět pomocí spektrofotometru.

Mezi další možnost patří tzv. MTT assay, což je metoda, u které jde o redukci žlutého MTT, které je rozpustné. Žluté MTT se redukuje na formazan, který je naopak nerozpustný a má modrou barvu – jedná se o modré krystalky. Tato reakce se uskutečňuje na mitochondriální membráně živých buněk a test opět vyhodnotíme spektrofotometrem. Čím tmavší barvu můžeme vidět, tím je vyšší absorbance a tím je i vyšší množství živých buněk [20].

#### 4.4 Testování kosmetických přípravků na dobrovolnících

Mezi časté testování již můžeme zařadit testování kosmetických přípravků na dobrovolnících. Testování musí být pro člověka bezpečný a nesmí nijak ohrozit jeho zdraví. Tyto studie jsou velmi podobné výzkumu v medicíně. Nejpodstatnější jsou zde pravidla – testování musí být etické a humánní. Podstatná smlouva je Helsinská deklarace, ve které nalezneme body, jimiž se musí řídit jak lékaři při výzkumu v oblasti medicíny, tak i všichni ostatní, jež se podílí např. na testování kosmetických přípravků. Vždy je u tohoto typu studie nutná Etická komise, která musí celou studii a testování schválit.

Jako další bod musí dát dobrovolník souhlas s provedením výzkumu, který musí být zcela dobrovolný. Testy musí po celou dobu provádět kvalifikované osoby, při testování

kosmetických přípravků se může např. jednat o osobu s vysokoškolským vzděláním a zaměřením na medicínu, toxikologii, či přímo kosmetiku. Dobrovolník má vždy právo testování ukončit v jakoukoliv chvíli studie a nesmí mu v tomto rozhodnutí být zabráněno.

Je také nutné vypracovat testovací protokol, který musí být vypracován ještě před samotným zahájením studie na dobrovolnících. V tomto protokolu jsou uvedeny všechny podstatné informace – nachází se zde cíle studie, způsob získání dobrovolníků pro výzkum a taky důvody, proč se tito dobrovolníci do studie zapojili. Testovací protokol musí také obsahovat všechna rizika, která by mohla v průběhu studie nastat a taky různé způsoby eliminace těchto rizik [20].

#### **4.5 Testování kožní dráždivosti *in vitro***

U již dříve zmíněných testů cytotoxicity jsou sice příznivé nízké náklady při kultivaci buněčných kultur, ale nejsou úplně vhodné. Chybí jim totiž důležitá část – *stratum corneum*, a proto buněčné kultury nejsou také tolik přesné. Z tohoto důvodu se postupně vyvíjela tzv. rekonstruovaná lidská pokožka – jedná se o tzv. 3D modely lidské kůže [20].

## 5 MODELÝ KŮŽE

Obecně existuje velká spousta modelů kůže, ať už jednoduché nebo složitější modely. Mezi jedny z nejjednodušších modelů kůže můžeme zařadit membrány, které jsou vyrobeny synteticky nebo např. lipidové membrány. Mezi složitější modely patří 3D modely kůže.

### 5.1 Membrány

#### 5.1.1 Membrány syntetické

Výhodou syntetických membrán je jejich snadná příprava a výroba, taky zde nejsou velké nároky na podmínky při jejich skladování. Jedná se o jednoduché membrány, které také slouží jako alternativa lidské kůže. Jsou ovšem oproti lidské kůži poměrně jednoduché a liší se od lidských membrán tím, že v nich neprobíhají fyziologické ani metabolické pochody. Vzhledem k tomu, že nejsou membrány náročné na přípravu, jsou hojně komerčně dostupné. Tyto synteticky připravené membrány mají dokonce bariérové vlastnosti, ovšem nejsou tak dokonalé jako je tomu u lidské kůže [37].

Mez velmi často používané syntetické membrány patří membrány silikonové. Většinou obsahují na povrchu film nebo jemný prášek, který slouží jako ochrana před poničením či zašpiněním. Důležité je tento film nebo prášek, před samotným použitím membrány, odstranit. Prášek se dá odstranit jednoduše – pomocí proudu vody. [38].

#### 5.1.2 Membrány celulózy

Tyto membrány se skládají z celulózy, která je tvořena glukopyranózových kruhů. Tyto kruhy jsou poté spojené vazbami – konkrétně  $\beta$ -1,4-glykosidickými. Řetězce v celulózových membránách se tím pádem mohou pohybovat pouze dvěma způsoby. První možností je otáčení okolo  $\beta$ -1,4-glykosidické vazby a druhou možností je přechod z židličkové konformace do vaničkové [37].

Často se využívají membrány připravené z acetátu celulózy. U jejich přípravy je podstatné, aby celulóza nabobtnala. Proto se membrána z acetátu celulózy promývá destilovanou vodou a dále se ve vodě nechá. Čím déle se membrána ve vodě nechá, tím se její šířka zvětšuje [38].

### 5.1.3 Membrány lipidové

Vznik lipidových membrán je poměrně složitější. Je třeba vždy potřeba připravit komponenty, které pro vývoj lipidové membrány potřebujeme. Tyto komponenty můžeme získat z lidské kůže – např. z kůže po plastické operaci. Z lidské kůže můžeme získat vrstvu *stratum corneum* a dále poté vyjmout lipidy, které potřebujeme pro vytvoření lipidové membrány [40].

Pro výrobu lipidové membrány používáme ceramidy, které máme možnosti získat z lidské kůže, dále volné mastné kyseliny a cholesterol [41]. Tato vzniklá směs se většinou rozpouští ve směsi hexanu s ethanolem, kdy se dále odpaří použité rozpouštědlo, směs se vysuší a přidá se pufr. Pufr se používá k udržení potřebné hodnoty pH, která zůstane stejná i po přidání kyseliny či zásady [40].

Lipidové membrány obsahují také membránové filtry, ty se při přípravě membrány musí zahřát, dále se navlhčí destilovanou vodou a po tomto kroku jsou připraveny na aplikaci lipidové směsi. Lipidová směs se aplikuje stříkačkou a aplikuje se přímo na navlhčené membránové filtry. Nanesená lipidová směs poté musí uschnout a tímto je lipidová membrána zcela hotová [42].

## 5.2 3D modely kůže

Spektrum trojrozměrných modelů buněčných kultur je velmi rozmanité, protože je zde spousta různých požadavků na různé typy aplikací. 3D modely buněčných kultur se využívají nejen při testování kosmetických přípravků, ale také při testování léků, ve tkáňovém inženýrství nebo například u výzkumů zaměřených na různá onemocnění jako je např. rakovina [43].

Již od 80. let minulého století probíhá vývoj 3D modelů tkání. Jedná se o různé tkáně – např. rohovky, plicního epitelu, nebo kůže. Testy se provádějí na trojrozměrných rekonstruovaných modelech lidské kůže. Tyto modely mají velmi podobné fyziologické a biochemické vlastnosti jako lidská epidermis. Mají věrné napodobení uspořádání jako svrchní část kůže – epidermis včetně vrstvy *stratum corneum*. Modely obsahují normální lidské keratinocyty od jednoho dárce, jsou metabolicky aktivní, obsahují 8-12 vrstev epidermis a přibližně 10-15 vrstev vrstvy *stratum corneum* [20]. O lidské pokožce se ale stále dozvídáme nové informace, a proto je podstatné, aby se, na základě nových informací, stále vyvíjely také 3D modely kůže.

Mezi hlavní výhody používání 3D modelů kůže, využívaných k testování jak kosmetických přípravků, tak i jiných látek, patří jejich poměrně dobrá dostupnost. Další výhodou je fakt, že se díky 3D modelům kůže omezuje testování na pokusných zvířatech [44].

Při testování na 3D modelech kůže je princip takový, že jsou testované látky schopné proniknout přes vrstvu *stratum corneum* pomocí difúze a jsou cytotoxické pro buňky, které se nachází v podkladových vrstvách kůže [20].

3D modelů kůže je velké množství. Jsou vyráběny různé druhy a modely. Nejprimitivnější model obsahuje jen epidermis, která je diferenciována. Kultivované keratinocyty jsou vsazeny do kultury, která obsahuje kožní tkáň. Keratinocyty tedy rostou, odstraní se médium, což je v podstatě živná půda a nechá se na keratinocyty působit vzduch. Díky tomuto dochází k vytvoření vrstev epidermis a vytvoří se také důležitá vrstva *stratum corneum* [45].

### 5.2.1 3D modely kůže – pouze z lidských komponentů

Vyrobí se také takové 3D modely kůže, které jsou složeny jen z lidských kožních komponentů. V těchto typech modelů se místo kolagenu poté používá kožní substituent odvozený z fibroblastů [46]. Mezi jednu z dalších možností patří např. využití keratinocytů, které byly odvozeny z kořenů vlasových folikulů. Je to jednoduchý postup, jak keratinocyty získat od pacienta nebo dobrovolníka [44].

### 5.2.2 3D modely kůže – s obsahem syntetické *stratum corneum*

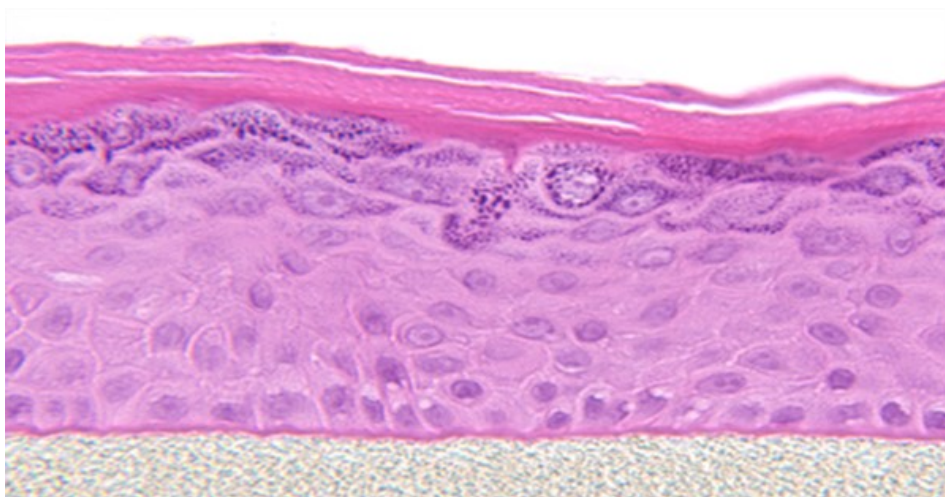
Ke tvorbě 3D modelů kůže můžeme také využít kultivované buňky *stratum corneum*. Běžně je již komerčně dostupný model lidské kůže, který je vytvořen metodou *in vitro* (v laboratorních podmínkách) a je vyroben pomocí kultivace dermálních a epidermálních buněk [45].

Nyní je dostupných více řad kožních modelů a jejich výrobci jsou různí. Příkladem je třeba EpiDerm<sup>®</sup>, EpiOcular<sup>®</sup>, EpiSkin<sup>®</sup> nebo např. SkinEthic<sup>®</sup>. Tyto modely kůže jsou velmi podobné lidské stavbě kůže. Jsou vhodné pro testování kosmetických přípravků nebo třeba léčiv. Tyto modely se stejně jako všechny další stále vyvíjí, jelikož je hlavním cílem, aby jejich podobnost s lidskou stavbou a morfologií kůže byla opravdu co největší, velký důraz je kladen na bariérovou funkci, kterou mají tyto modely často ještě ne zcela podobnou [16,47].

### 5.2.3 EpiDerm®

Tento 3D model vytvořila firma MatTek z USA. EpiDerm® tvoří vysoce diferenciovaný model lidské pokožky [20]. Epidermální buňky se kultivují na plastových miskách na rozhraní vzduch-kapalina [48]. Nutné je použít médium bez séra a poté se postupně vytvoří mnohvrstevnatá struktura s diferenciovanými buňkami. EpiDerm® vytváří vrstvy epidermis, je metabolicky aktivní a velmi podstatné je, že obsahuje ty složky, které jsou typické pro epidermis *in vivo*. Na tomto modelu je vhodné testovat kožní dráždivost, jelikož bylo dokázáno, že tyto 3D modely mají srovnatelné výsledky s výsledky pokusů na králících [20]. Dále je tento model také vhodný např. pro testování permeability (propustnosti) a samozřejmě i mnoha dalších vlastností zkoumaných látek. Jedná se o velmi oblíbený model, jelikož je možné jej využít pro širokou škálu testů [48].

U modelu EpiDerm® bylo vyvinuto více typů a firma stále vyvíjí další. Dostupné modely jsou například. Rekonstruovaná epidermis s melanocyty, nebo dokonce zrohovatělá epidermis. Různost modelů je v těchto ohledech také velmi podstatná, jelikož je kůže každého jedince odlišná. Lidé mají odlišné fototypy kůže, věk – přichází stárnutí kůže atd. a na základě např. fototypu také každá pokožka reaguje trochu odlišně [49].



Obrázek 9 - Struktura modelu EpiDerm® [50]

### 5.2.4 EpiOcular®

Na trhu jsou také samozřejmě další řady trojrozměrných modelů. Např. EpiOcular®, opět od firmy MatTek. Jedná se o 3D model rohovky. Na tomto modelu je možné testovat iritaci očí. Struktura modelu napodobuje povrch lidské rohovky. Tento model se skládá z normálních lidských keratinocytů a ty tvoří dlaždicový epitel – obdobný jako je u lidské rohovky.

Struktura je velmi podobná stavbě rohovky *in vivo*. Pokud testujeme slabé a střední iritanty, výsledky prozatím ukazují, že modely EpiOcular® mají poměrně vysokou predikční schopnost [20].

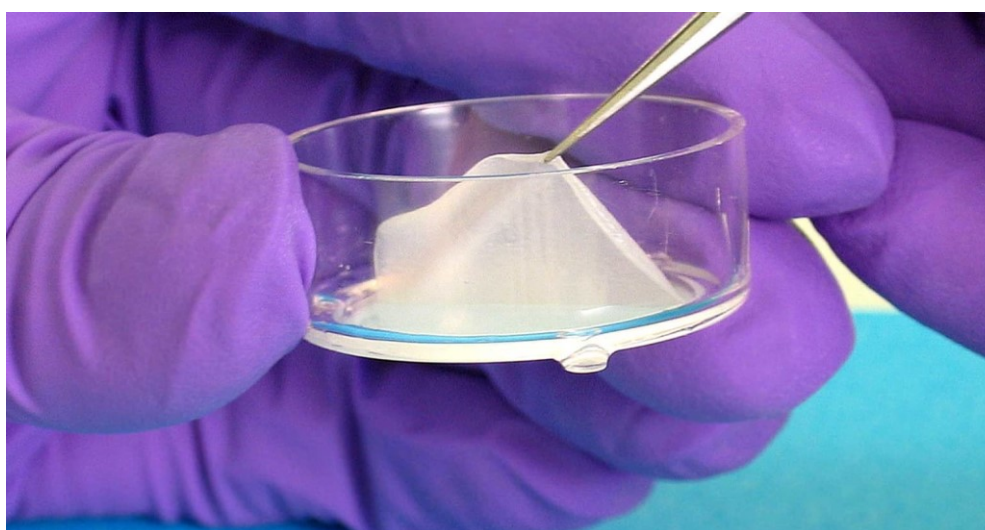
## EpiOcular



Obrázek 10 - model EpiOcular® [51]

### 5.2.5 EpiSkin®

Model EpiSkin® vlastní firma L'Oréal. Hlavní využití tohoto modelu je především pro testování dráždivosti zkoumaných látek. V modelu se nachází všechny pokožky, tak jako je tomu u lidské [52]. Vrstva *stratum corneum* má ovšem oproti lidské *stratum corneum* více vrstev buněk a tím pádem je také hrubší. Model EpiSkin® obsahuje hlavně hovězí kolagenovou matrix. Tato kolagenová matrix představuje škáru (*corium*). Na povrch hovězí kolagenové matrix se přidává lidský kolagen a později také diferenciovaná epidermis z lidských keratinocytů. [53]. Jeho příprava se provádí pomocí kultivace vyzrálých lidských keratinocytů, která se provádí na kolagenovém substrátu. [54].



Obrázek 11 - model EpiSkin® [55]

Vzhledem k tomu, že každý ze 3D modelů má své výhody i nevýhody, jsou různé typy modelů, kdy je vždy jeden typ vhodný pro určitou aplikaci. Jeden typ modelu není vhodný pro veškeré aplikace.

vzhledem k tomu, že každý ze 3D modelů má své výhody i nevýhody, jsou různé typy modelů, kdy je vždy jeden typ vhodný pro určitou aplikaci. Jeden typ modelu není vhodný pro veškeré aplikace.

Mezi jedny z dalších často používaných 3D modelů na in vitro metody patří hydrogely na bázi extracelulární matrix. Tyto modely se využívají k průkazu většího fyziologického zastoupení pro více typů buněk. Jsou využívány k diferenciaci kmenových buněk nebo na objev léků. Hydrogely se také dají velmi jednoduše použít ve složitějších podobných modelech [56].

### 5.3 Rozdíl mezi *stratum corneum* lidskou a ve 3D modelech

Jedna z nejdůležitějších částí u 3D modelů kůže je vrstva *stratum corneum*. V lidské kůži tvoří *stratum corneum* velkou část bariérové funkce, která je pro kůži velmi důležitá. Při jedněch z prvních pokusů o vytvoření kožní bariéry se aplikovaly keratinocyty na kolagenové gely a nebo na filtry, které byly kolagenem potaženy, ale vrstva *stratum corneum* se nevytvořila zcela dle představ [57]. Následovaly další pokusy, při kterých byly keratinocyty kombinovány např. kolagenovými gely, které byly naplněny fibroblasty. Fibroblasty měly za úkol vytvořit lepší postavení. Ani tento postup však nebyl nejúspěšnější [58]. Další kroky vedly k použití Vitamínu C, kdy byly výsledky poměrně lepší. Díky použití Vitamínu C došlo k tomu, že se vytvořily také hydrofilní ceramidy, což se do té doby nepovedlo. Tyto ceramidy nebyly svým složením úplně totožné jako ceramidy obsažené v lidské kůži, ale pokrok byl již znatelný [59]. Došlo tedy k závěru, že je nutné přidávat do kultivačního média Vitamín C, aby byla propustnost a celkově bariérová funkce co možná nejvíce podobná lidské kůži [60].

### 5.4 Rozdíl mezi 2D a 3D modely

Mezi 2D a 3D modely je značná řada rozdílů, např. způsob jakým buňky rostou, spojují se, rozdíl je také v proliferaci buněk, v jejich pohyblivosti nebo například v diferenciaci. Liší se také reakce na různé podněty a v podstatě celkové fungování buněk. Hlavní a nejpodstatnější rozdíly můžeme pozorovat v morfologii buněk. U 2D modelů přilne buňka pomocí adheze pouze na jedné straně, jedná se o tu stranu, která je v kontaktu s 2D povrchem. Ve 3D modelech přilne buňka kolem celého povrchu buňky. Rozdíl je zde také v rychlosti přilnutí,



u 2D kultury dochází k přilnutí buňky a následnému šíření v pár minutách, zatímco u 3D modelů trvá tento proces klidně i pár hodin, popřípadě několik dnů. 2D modely jsou zkrátka oprati kůži příliš jednoduché. 3D modely se velmi blíží běžné lidské kůži, ale stále je u nich nižší bariérová funkce [56].

Jak bylo již dříve řečeno – vytvořit 3D modely kůže rozhodně není jednoduchý úkol. Lidská kůže má sice svou základní stavbu a složení podobnou v každém lidském organismu, ale nikdy není úplně stejná. Velké rozdíly jsou například v barvě kůže, která se může velmi lišit. Například každý fototyp je na tom s barvou kůže jinak, protože kůže obsahuje různé množství melaninu, tím pádem je každý fototyp také jinak citlivý na vystavení se na Slunci. Velký rozdíl může být v reakci u jednotlivých fototypů na např. fotosensibilní látku a následné vystavení UV záření [61, 62].

## 5.5 Fototypy

Čím více je *stratum corneum* a také úroveň pigmentace melaninu v kůži, tím stoupá i přirozená ochrana kůže proti UV záření. Kůži můžeme rozdělit do šesti fototypů. Toto dělení je podle reakce kůže na sluneční záření.

Fototyp I neboli tzv. keltský typ – typickým zástupcem je velmi světlá pokožka člověka, jedná se často o albíny, lidi s blondřatými či rusovlasými vlasy. Tito lidé mají často pihy a typická je pro ně nulová pigmentace. Po vystavení slunečnímu záření se keltský typ vždy spálí a pouze málokdy přejde do hnědé barvy. Doporučená expozice je tedy pouze 5 – 10 minut [35].

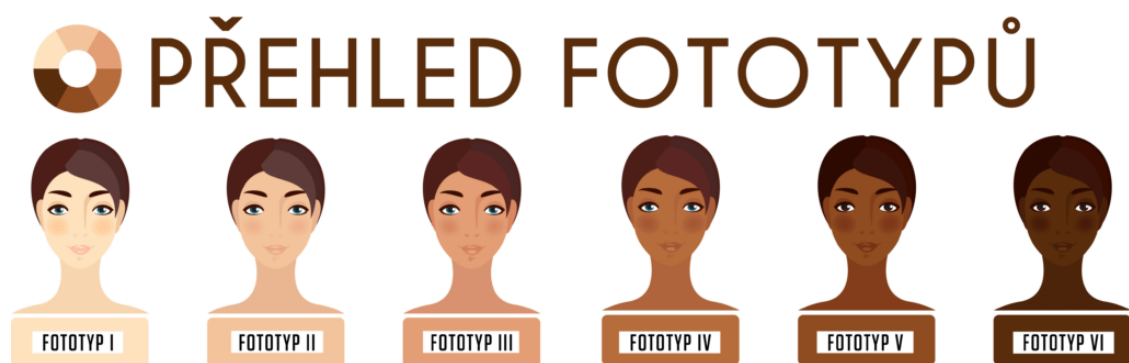
Dalším fototypem je fototyp II, tzv. skandinávský typ. Kůže těchto lidí občas pigmentuje, ale i tak se vždy na slunci spálí asi po 10 – 20 minutách expozice. Stejně jako u fototypu I se jedná o citlivou pokožku, která vždy zarudne a občas přejde do hnědé barvy. Řadíme sem opět světlé typy, které mají často pihy, světle hnědé nebo blondřaté vlasy a často modré nebo zelené oči.

Mezi fototyp III patří velká většina střeoevropanů. Většina populace spadá do tohoto fototypu. Pokožka je normální, na slunci pigmentuje a spálí se velmi zřídka. Tito lidé nemají pihy, jejich kůže má světlehnědou barvu, vlasy bývají blondřaté až tmavě hnědé a barva očí je většinou hnědá. Barva jejich pokožky je po opálení vždy hnědá a doporučená expozice a slunci se pohybuje kolem 20–30 minut [61, 62].

Pokud se kůže nikdy po vystavení slunečnímu záření nespálí, ale pokaždé pouze pigmentuje, jedná se o fototyp IV, který také jinak nazýváme středomořský typ. Zde řadíme lidi, jejichž pokožka je poměrně odolná. Tito lidé mají tmavou pleť bez pih, tmavě hnědé nebo dokonce černé vlasy. Doporučená expozice na slunci je pro tento fototyp až přibližně 45 minut [62].

Fototyp V mají Arabové a jižní rasy a u černochů se jedná o fototyp VI [61].

Už jen díky spoustě fototypů není jednoduché vyvinout 3D modely kůže, jelikož každá pokožka obsahuje jiné množství pigmentu – melaninu a může se velmi lišit v závislosti na fototypu. I na toto je tedy třeba myslet při vytváření trojrozměrných modelů kůže.



Obrázek 12 - Přehled fototypů [63]

## ZÁVĚR

Bakalářská práce je teoretická a je zpracována jako rešerše, neobsahuje tudíž část praktickou. Cílem práce bylo vypracovat text, který se týká 3D modelů kůže.

Bakalářská práce se zabývá kůží – její stavbou a funkcemi, legislativou kosmetických přípravků, jejich bezpečností a dále modely kůže – od jednoduchých buněčných kultur až ke složitým 3D modelům lidské kůže.

V úvodních kapitolách nalezneme popis kůže a všech jejích vrstev, kožních adnex a také funkce kůže.

Další kapitola se zabývá legislativou kosmetických přípravků, kde najdeme jednotlivá nařízení a zákony, které musí kosmetické přípravky uvedené na trh splňovat, aby byly bezpečné a nezávadné.

Dále zde najdeme testování kosmetických přípravků na zvířatech a různé typy nejčastěji prováděných testů a jejich průběh. Jsou zde uvedeny také konkrétní typy testů.

Bakalářská práce dále pokračuje jednoduchými modely kůže, kde patří nejprve buněčné kultury, které jsou ale poměrně nedokonalé, dále syntetické modely, které mohou být různé (celulózoový, lipidový, syntetický) a postupem času také prošly vývojem a poslední kapitola se týká již složitějších modelů, jedná se o 3D modely kůže.

Ačkoliv jejich vývoj není vůbec jednoduchý, jelikož je lidská kůže velmi složitý a celistvý orgán, který plní obrovské množství funkcí, myslím, že postupný vývoj a vylepšování 3D modelů kůže se ubírá dobrým směrem, už jen z toho důvodu, že se postupně upouští od testování na zvířatech, jelikož není možné se na výsledky testů vždy spoléhat – právě kvůli rozdílům ve stavbě kůže člověka a zvířete.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] Reiger, Martin M.. (2000). Harry's Cosmeticology, Volumes I-II (8th Edition). Chemical Publishing Company. Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpHCVIIIIEH/harrys-cosmeticology/harrys-cosmeticology>
- [2] Kulkarni, Vitthal S.. (2010). Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems - Non-Invasive and Minimally-Invasive Drug Delivery Systems for Pharmaceutical and Personal Care Products. Elsevier. Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpHNIDDSN2/handbook-non-invasive/handbook-non-invasive>
- [3] Uyar, Tamer Kny, Erich. (2017). Electrospun Materials for Tissue Engineering and Biomedical Applications - Research, Design and Commercialization. Elsevier. Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpEMTEBAR1/electrospun-materials/electrospun-materials>
- [4] FIALA, Pavel, Jiří VALENTA a Lada EBERLOVÁ. Stručná anatomie člověka. Praha: Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 2015. ISBN 978-80-246-2693-2.
- [5] Wong R, Geyer S, Weninger W, Guimberteau JC, Wong JK. The dynamic anatomy and patterning of skin. *Exp Dermatol*. 2016 Feb;25(2):92-8. doi: 10.1111/exd.12832. Epub 2015 Oct 13. PMID: 26284579.
- [6] RESL, Vladimír. Dermatovenerologie: přehled nejdůležitějších znalostí a zkušeností pro bakalářské a magisterské studium nelékařských oborů. V Plzni: Západočeská univerzita, 2014. ISBN 978-80-261-0387-5.
- [7] Langerhansovy buňky. Wikipedia [online]. [cit. 2022-05-18]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Langerhansovy\\_ostr%C5%AFvky](https://cs.wikipedia.org/wiki/Langerhansovy_ostr%C5%AFvky)
- [8] Vrstvy epidermis. Science direct [online]. [cit. 2022-05-18]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/epidermis>
- [9] Kolarsick P. A. J., Kolarsick M. A., Goodwin C.: Anatomy and Physiology of the Skin: *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. 2011, 3(4), s. 203-213.
- [10] Wickett R. R., Visscher M. O.: Structure and function of the epidermal barrier: *American Journal of Infection Control*. 2006, 34(10), s. 98-110.

- [11] Matsui T., Amagai M.: Dissecting the formation, structure and barrier function of the stratum corneum: *International Immunology*. 2015, 27(6), s. 269-280.
- [12] Nguyen L. B., Ricciardi T. N., Malouf A. T.: Reinnervation of stratum lucidum by hippocampal mossy fibers is developmentally regulated. *Developmental Brain Research*. 1996, 95(2), s. 184-193.
- [13] Lai-Cheong J. E., Mcgrath J. A.: Structure and function of skin, hair and nails: *Medicine*. 2017, 45(6), s. 347-351.
- [14] JIRÁSKOVÁ, Milena. Dermatovenerologie pro stomatology: učebnice pro lékařské fakulty. Brno: Professional Publishing, 2001. ISBN 80-86419-07-x.
- [15] Stavba vlasu [online]. [cit. 2022-05-18]. Dostupné z: [http://www.multimediaexpo.cz/mmecz/index.php/Chlup\\_\(zoologie\)](http://www.multimediaexpo.cz/mmecz/index.php/Chlup_(zoologie))
- [16] Růstové fáze vlasu [online]. [cit. 2022-05-18]. Dostupné z: <https://akademie.inhair.cz/wp-content/uploads/cyklusvlasu.jpg>
- [17] Stavba nehtu [online]. [cit. 2022-05-18]. Dostupné z: <https://nanuntio.com/cs/trapi-vas-plisen-nehtu-dulezita-je-vytrvalost/>
- [18] Sriram G, Bigliardi PL, Bigliardi-Qi M. Fibroblast heterogeneity and its implications for engineering organotypic skin models in vitro. *Eur J Cell Biol*. 2015 Nov;94(11):483-512. doi: 10.1016/j.ejcb.2015.08.001. Epub 2015 Aug 14. PMID: 26344860.
- [19] Qin Z., Worthen Ch. A., Quan T.: Cell-size-dependent upregulation of HGF expression in dermal fibroblasts: Impact on human skin connective tissue aging. *Journal of Dermatological Science*. 2017, 88(3), s. 289-297
- [20] SALVADOR, Amparo a Alberto CHISVERT. Analysis of cosmetic products. London: Elsevier, 2007. ISBN 978-0-444-52260-3.
- [21] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích. In: . ČESKO, 2009. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:CS:PDF>
- [22] ČESKO. Zákon č. 258/2000 Sb.: Zákon o ochraně veřejného zdraví. In: . ČESKO, 2000. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-258>

- [23] ČESKO. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACH). In: . ČESKO, 2006. Dostupné také z: <https://esipa.cz/sbirka/sbsrv.dll/sb?DR=AZ&CP=02006R1907-20210825>
- [24] ČESKO. Zákon č. 102/2001 Sb.: Zákon o obecné bezpečnosti výrobků a o změně některých zákonů (zákon o obecné bezpečnosti výrobků). In: . 2001. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-102>
- [25] ČESKO. Zákon č. 634/1992 Sb.: Zákon o ochraně spotřebitele. In: . 1992. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1992-634>
- [26] ČESKO. Zákon č. 350/2011 Sb.: Zákon o chemických látkách a chemických směsích a o změně některých zákonů (chemický zákon). In: . 2011. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2011-350>
- [27] Pokusy na zvířatech [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <http://www.pokusynazviratech.cz/testovani-kosmetiky-a-prostredku-pro-domacnost-na-zviratech.htm>
- [28] Test oční dráždivosti [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <http://animalrights.webz.cz/jedy.htm>
- [29] Toxic and Tragic Consequences of Product Testing on Animals, ©2021. In. Peta.org [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <https://www.peta.org/issues/animals-used-for-experimentation/animals-used-experimentation-factsheets/product-testingtoxic-tragic/>
- [30] Test kožní dráždivosti [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: [https://www.c-budejovice.cz/sites/default/files/obsah/Odbory/pdf/svoboda\\_zvirat.pdf](https://www.c-budejovice.cz/sites/default/files/obsah/Odbory/pdf/svoboda_zvirat.pdf)
- [31] HORÁK, Josef, Igor LINHART a Petr KLUSOŇ. Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2004. ISBN 807080548x
- [32] Alternatives to Animal Testing, ©2021. In. Peta.org [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <https://www.peta.org/issues/animals-used-for-experimentation/alternatives-animal-testing/>.
- [33] KOTINGOVÁ, L. Kinetika vybraných látek při dermální expozici: Polycyklické aromatické uhlovodíky. Hradec Králové, 2015. Disertační práce. Univerzita Karlova.

[34] SECTION 4: HEALTH EFFECTS TEST NO. 428: SKIN ABSORPTION: IN VITRO METHOD. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. S.l.: OECD Pub, 2004. ISBN 9789264071087.

[35] BRYCE, Emma, 2019. What Are the Alternatives to Animal Testing. In. Livescience.com [online]. Publikováno 4. 5. 2019 [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <https://www.livescience.com/65401-animal-testing-alternatives.html>.

[36] Testování na buněčných kulturách [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <http://www.pokusynazviratech.cz/alternativy-k-pokusum-na-zviratech.htm>

[37] AMERI, Mahmoud, Hayley LEWIS a Paul LEHMAN. Effect of Skin Model on In Vitro Performance of an Adhesive Dermally Applied Microarray Coated with Zolmitriptan. Journal of Pharmaceutics [online]. 2018, 2018, 1-5 [cit. 2022-05-19]. ISSN 2090-9918. Dostupné z: doi:10.1155/2018/7459124

[38] HAIGH, John M. a Eric W. SMITH. The selection and use of natural and synthetic membranes for in vitro diffusion experiments. European Journal of Pharmaceutical Sciences [online]. 1994, 2(5-6), 311-330 [cit. 2022-05-19]. ISSN 09280987. Dostupné z: doi:10.1016/0928-0987(94)90032-9

[39] SATO, S a S KIM. Macromolecular diffusion through polymer membranes. International Journal of Pharmaceutics [online]. 1984, 22(2-3), 229-255 [cit. 2022-05-19]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/0378-5173(84)90024-3

[40] SOCHOROVÁ, Michaela, Pavla AUDRLICKÁ, Martina ČERVENÁ, Andrej KOVÁČIK, Monika KOPEČNÁ, Lukáš OPÁLKA, Petra PULLMANNOVÁ a Kateřina VÁVROVÁ. Permeability and microstructure of cholesterol-depleted skin lipid membranes and human stratum corneum. Journal of Colloid and Interface Science [online]. 2019, 535, 227-238 [cit. 2022-05-19]. ISSN 00219797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2018.09.104

[41] GROEN, Daniel, Gert S. GOORIS a Joke A. BOUWSTRA. Model Membranes Prepared with Ceramide EOS, Cholesterol and Free Fatty Acids Form a Unique Lamellar Phase. Langmuir [online]. 2010, 26(6), 4168-4175 [cit. 2022-05-19]. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/la9047038

[42] ABRAHAM, William a Donald T. DOWNING. Preparation of Model Membranes for Skin Permeability Studies Using Stratum Corneum Lipids. Journal of Investigative

Dermatology [online]. 1989, 93(6), 809-813 [cit. 2022-05-19]. ISSN 0022202X. Dostupné z: doi:10.1111/1523-1747.ep12284431

[43] 3D Cell Culture Trends 2010 Report, published by HTStec Limited, Cambridge, UK, February 2010

[44] RADEMACHER, Franziska, Maren SIMANSKI, Regine GLÄSER a Jürgen HARDER. Skin microbiota and human 3D skin models. *Experimental Dermatology* [online]. 2018, 27(5), 489-494 [cit. 2022-05-19]. ISSN 09066705. Dostupné z: doi:10.1111/exd.13517

[45] DE BREIJ, Anna, Elisabeth M. HAISMA, Marion RIETVELD, Abdelouahab EL GHALBZOURI, Peterhans J. VAN DEN BROEK, Lenie DIJKSHOORN a Peter H. NIBBERING. Three-Dimensional Human Skin Equivalent as a Tool To Study *Acinetobacter baumannii* Colonization. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2012, 56(5), 2459-2464 [cit. 2022-05-19]. ISSN 0066-4804. Dostupné z: doi:10.1128/AAC.05975-11

[46] EL GHALBZOURI, Abdoelwaheb, Suzan COMMANDEUR, Marion H. RIETVELD, Aat A. MULDER a Rein WILLEMZE. Replacement of animal-derived collagen matrix by human fibroblast-derived dermal matrix for human skin equivalent products. *Biomaterials* [online]. 2009, 30(1), 71-78 [cit. 2022-05-19]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2008.09.002

[47] 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 [cit. 2022-05-19]. ISSN 09396411. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejpb.2005.03.004

[48] ROSDY, M., A. PISANI a J.-P. ORTONNE. Production of basement membrane components by a reconstructed epidermis cultured in the absence of serum and dermal factors. *British Journal of Dermatology* [online]. 1993, 129(3), 227-234 [cit. 2022-05-19]. ISSN 00070963. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2133.1993.tb11839.x

[49] CANNON, C.L., P.J. NEAL, J.A. SOUTHEE, J. KUBILUS a M. KLAUSNER. New epidermal model for dermal irritancy testing. *Toxicology in Vitro* [online]. 1994, 8(4), 889-891 [cit. 2022-05-19]. ISSN 08872333. Dostupné z: doi:10.1016/0887-2333(94)90095-7



- [50] Struktura modelu EpiDerm® [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <https://www.mattek.com/products/epiderm>
- [51] Model EpiOcular® [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <https://www.mattek.com/products/epiocular/>
- [52] PONEC, Maria, Esther BOELSMA, Susan GIBBS a Mieke MOMMAAS. Characterization of Reconstructed Skin Models. *Skin Pharmacology and Physiology* [online]. 2002, 15(1), 4-17 [cit. 2022-05-19]. ISSN 1660-5527. Dostupné z: doi:10.1159/000066682
- [53] TINOIS, Estelle, Jerome TIOLLIER, Martine GAUCHERAND, Henri DUMAS, Michel TARDY a Jean THIVOLET. In vitro and post-transplantation differentiation of human keratinocytes grown on the human type IV collagen film of a bilayered dermal substitute. *Experimental Cell Research* [online]. 1991, 193(2), 310-319 [cit. 2022-05-19]. ISSN 00144827. Dostupné z: doi:10.1016/0014-4827(91)90102-Z
- [54] PELLEVOISIN, Christian, Christelle VIDEAU, Damien BRIOTET, et al. SkinEthic™ RHE for in vitro evaluation of skin irritation of medical device extracts. *Toxicology in Vitro* [online]. 2018, 50, 418-425 [cit. 2022-05-19]. ISSN 08872333. Dostupné z: doi:10.1016/j.tiv.2018.01.008
- [55] Model EpiSkin® [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <https://www.cnbc.com/2017/05/25/loreal-is-making-lab-produced-human-skin-to-curb-animal-testing.html>
- [56] BAKER, Brendon M. a Christopher S. CHEN. Deconstructing the third dimension – how 3D culture microenvironments alter cellular cues. *Journal of Cell Science* [online]. [cit. 2022-05-19]. ISSN 1477-9137. Dostupné z: doi:10.1242/jcs.079509
- [57] PRUNIÉRAS, Michel, Marcelle RÉGNIER a David WOODLEY. Methods for Cultivation of Keratinocytes with an Air-Liquid Interface. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 1983, 81(1), S28-S33 [cit. 2022-05-19]. ISSN 0022202X. Dostupné z: doi:10.1111/1523-1747.ep12540324
- [58] BELL, E, B IVARSSON a C MERRILL. Production of a tissue-like structure by contraction of collagen lattices by human fibroblasts of different proliferative potential in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1979, 76(3), 1274-1278 [cit. 2022-05-19]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.76.3.1274

- [59] PONEC, Maria, Arij WEERHEIM, Johanna KEMPENAAR, Aat MULDER, Geert S. GOORIS, Joke BOUWSTRA a A. MIEKE MOMMAAS. The Formation of Competent Barrier Lipids in Reconstructed Human Epidermis Requires the Presence of Vitamin C. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 1997, 109(3), 348-355 [cit. 2022-05-19]. ISSN 0022202X. Dostupné z: doi:10.1111/1523-1747.ep12336024
- [60] LOTTE, C., C. PATOUILLET, M. ZANINI, A. MESSEGER a R. ROGUET. Permeation and Skin Absorption: Reproducibility of Various Industrial Reconstructed Human Skin Models. *Skin Pharmacology and Physiology* [online]. 2002, 15(1), 18-30 [cit. 2022-05-19]. ISSN 1660-5527. Dostupné z: doi:10.1159/000066679
- [61] Dermatologie pro praxi [online]. 2011 [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2011/03/07.pdf>
- [62] Celostní medicína [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <https://www.celostnimedicina.cz/jaky-jste-fototyp.htm>
- [63] Přehled fototypů [online]. [cit. 2022-05-19]. Dostupné z: <https://www.fashionmagazin.cz/vyber-opalovaci-kosmetiky/>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

GAG Glukosaminglykany

DNA Deoxyribonukleová kyselina

UV ultrafialové

mg miligram

kg kilogram

m<sup>3</sup> metr krychlový

2D dvojrozměrný

3D trojrozměrný

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 - Langerhansovy buňky [7] .....	13
Obrázek 2 - Jednotlivé vrstvy epidermis [8].....	14
Obrázek 3 - Stavba vlasu [15].....	19
Obrázek 4 - Růstové fáze vlasu [16].....	19
Obrázek 5 - Stavba nehtu [17] .....	20
Obrázek 6 - Test oční dráždivosti [28] .....	26
Obrázek 7 - Test kožní dráždivosti [30] .....	27
Obrázek 8 - Testování na buněčných kulturách [36].....	32
Obrázek 9 - Struktura modelu EpiDerm® [50] .....	38
Obrázek 10 - model EpiOcular® [51] .....	39
Obrázek 11 - model EpiSkin® [55].....	39
Obrázek 12 - Přehled fototypů [63] .....	42