

# Zooceutika a kosmetické ingredience živočišného původu

Gabriela Bazalová

---

Bakalářská práce  
2023



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

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

Akademický rok: 2022/2023

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Gabriela Bazalová
Osobní číslo:	T20402
Studijní program:	B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace:	Biomateriály a kosmetika
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Zooceutika a kosmetické ingredience živočišného původu

## Zásady pro vypracování

### I. Teoretická část:

V literární studii se věnujte zadané problematice; vysvětlete terminologii vztahující se ke kosmetickým přípravkům, kosmeceutikům a zooceutikům.

Přehledně zpracujte informace k aktivním ingrediencím živočišného původu a zaměřte se na jejich kosmetickou účinnost.

### II. Praktická část:

V praktické části ověřte účinnost vybrané látky živočišného původu in vivo za použití dostupných neinvazivních instrumentálních metod.

Získané výsledky zpracujte, interpretujte a diskutujte s dostupnými odbornými zdroji.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] Adhikari, D.; Ray, S. Marine zooceuticals—Synergy of zoology & pharmaceuticals. *Pharmawave* 2016, 9, 1–14.
- [2] Cristiano, L.; Guagni, M. Zooceuticals and Cosmetic Ingredients Derived from Animals. *Cosmetics* 2022, 9, 13.
- [3] Kurek-Górecka, A.; Górecki, M.; Rzepecka-Stojko, A.; Balwierz, R.; Stojko, J. Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules* 2020, 25, 556.
- [4] Sivamani, R., Jagdeo, J.R., Elsner, P., & Maibach, H.I. (Eds.). (2015). *Cosmeceuticals and Active Cosmetics* (3rd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b18895>.
- [5] Alamgir, A.N.M. (2018). Bioactive Compounds and Pharmaceutical Excipients Derived from Animals, Marine Organisms, Microorganisms, Minerals, Synthesized Compounds, and Pharmaceutical Drugs. In: *Therapeutic Use of Medicinal Plants and their Extracts: Volume 2. Progress in Drug Research*, vol 74. Springer, Cham.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Jana Pavlačková, Ph.D.**  
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce: **1. února 2023**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

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 užit 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 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**

Tato práce se zabývá aktivními látkami živočišného původu. Jsou rozebrány jejich zdroje, kosmetická aplikace a účinnost. V praktické části byl hodnocen vliv gelových formulací s obsahem 0 %, 0,5 % a 1,5 % kolagenního hydrolyzátu na vybrané biofyzikální parametry kůže. Přídavek kolagenu nepodpořil hydrataci kůže, došlo ke snížení transepidermální ztráty vody, poklesu pH a redukci množství vrásek. Nebyl prokázán vliv na mikrorelief kůže.

Klíčová slova: aktivní látky, kosmetika, kolagenní hydrolyzát, kůže, hydratace, transepidermální ztráta vody, pH, vrásky, mikrorelief

## **ABSTRACT**

This work deals with active substances of animal origin. Their sources, cosmetic application and efficacy are discussed. In the practical part, the effect of gel formulations containing 0%, 0.5% and 1.5% collagen hydrolysate on selected biophysical parameters of the skin was evaluated. The addition of collagen did not promote skin hydration, there was a reduction in transepidermal water loss, a decrease in pH and a reduction in wrinkles. No effect on skin microrelief was demonstrated.

Keywords: active ingredients, cosmetics, collagen hydrolysate, skin, hydration, transepidermal water loss, pH, wrinkles, microrelief

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí práce, Ing. Janě Pavlačkové, Ph.D., za poskytnuté rady a materiály a také za veškerou pomoc, trpělivost a vstřícnost při konzultacích. Dále bych chtěla poděkovat všem dobrovolnicím, které se účastnily měření praktické části. Vděčná jsem také své rodině za podporu během celého studia.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
<b>1 TERMINOLOGIE PŘÍPRAVKŮ POUŽÍVANÝCH NA KŮŽI</b> .....	<b>11</b>
1.1 KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY .....	11
1.2 KOSMECEUTIKA .....	12
1.3 ZOOCEUTIKA .....	12
<b>2 KOSMETICKÉ INGREDIENCE ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU</b> .....	<b>13</b>
2.1 INGREDIENCE HMYZÍHO PŮVODU.....	14
2.1.1 Včelí produkty.....	14
2.1.2 Chitin.....	17
2.1.3 Sericin .....	17
2.1.4 Pavoučí hedvábí .....	18
2.1.5 Karmín.....	19
2.2 INGREDIENCE ZÍSKÁVANÉ ZE SUCHOZEMSKÝCH ŽIVOČICHŮ.....	19
2.2.1 Kyselina hyaluronová.....	19
2.2.2 Hlemýžďí sliz .....	21
2.2.3 Keratin.....	22
2.2.4 Prasečí placenta .....	22
2.2.5 Velbloudí mléko.....	23
2.2.6 Lanolin .....	23
2.3 INGREDIENCE ZÍSKÁVANÉ Z VODNÍCH ŽIVOČICHŮ .....	24
2.3.1 Chitin.....	24
2.3.2 Kolagen .....	24
2.3.3 Rybí olej.....	27
2.3.4 Ambra.....	28
2.3.5 Sépiový inkoust.....	28
<b>3 SHRUTÍ SOUČASNÉHO STAVU ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY A CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>30</b>
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>32</b>
<b>4 METODIKA PRÁCE</b> .....	<b>33</b>
4.1 MATERIÁLY, CHEMIKÁLIE A POMŮCKY .....	33
4.2 PŘÍSTROJE .....	33
4.3 STANOVENÍ DISTRIBUCE MOLEKULOVÝCH HMOTNOSTÍ.....	35
4.4 PŘÍPRAVA GELOVÝCH FORMULACÍ .....	35
4.5 SOUBOR DOBROVOLNIC .....	36
4.6 ORGANIZACE A PODMÍNKY MĚŘENÍ.....	36
4.7 ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH DAT.....	38
<b>5 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>40</b>

5.1	ÚČINEK KOLAGENNÍCH FORMULACÍ NA HYDRATACI .....	41
5.2	ÚČINEK KOLAGENNÍCH FORMULACÍ NA TEWL.....	43
5.3	ÚČINEK KOLAGENNÍCH FORMULACÍ NA PH .....	45
5.4	ÚČINEK KOLAGENNÍCH FORMULACÍ NA MNOŽSTVÍ VRÁSEK .....	47
5.5	ÚČINEK KOLAGENNÍCH FORMULACÍ NA KOŽNÍ RELIÉF.....	50
5.6	MOLEKULOVÁ HMOTNOST A JEJÍ VLIV NA BIOFYZIKÁLNÍ ZMĚNY KŮŽE .....	56
<b>ZÁVĚR .....</b>		<b>57</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>		<b>59</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>		<b>71</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>		<b>72</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>		<b>73</b>



## ÚVOD

Historie využívání látek a materiálů přírodního původu k různým účelům je stará jako lidstvo samo. Není proto divu, že i v současné době se tyto suroviny stále hojně používají v různých oblastech, kosmetický průmysl nevyjímaje. Především rostoucí zájem o přírodní kosmetické a kosmeceutické produkty je iniciován hledáním nových a inovativních látek i živočišného původu, které mohou díky svým vlastnostem v portfoliu produktů určených k péči o lidské tělo plnit nejen roli funkčních, ale i aktivních přísad.

Podobně jako ostatní orgány také kůže prochází procesem stárnutí. Mezi hlavní projevy stárnutí kůže patří tvorba vrásek, vznik pigmentových skvrn, ztráta pružnosti a pevnosti pokožky nebo její nadměrná suchost. S přibývajícím věkem se také snižuje tvorba kolagenu, který se významně podílí na udržování pevnosti a elasticity kůže a zároveň zabraňuje jejímu ochabování. V rámci živočišné říše je možné najít spoustu aktivních látek, které při pravidelném používání zpomalují proces stárnutí a přispívají k celkovému zlepšení stavu pleti. Mezi takové látky patří kolagen, který je možné doplnit pomocí přípravků s obsahem jeho hydrolyzované formy, jež je dobře rozpustná a vstřebatelná s dobrými biologickými vlastnostmi. Vzhledem k hojnému výskytu skrze celý podkmen obratlovců se jedná o velmi dobře dostupnou biokompatibilní látku. Tento cenný biopolymer se vyskytuje také v odpadových tkáních, které jsou dnes v rámci konceptu cirkulární ekonomiky bezpečnou surovinou využitelnou nejen v kosmetickém průmyslu, ale je vhodnou surovinou i pro nutraceutické nebo potravinářské aplikace. Z těchto důvodů bylo k ověřování účinků na stárnoucí pleť vybráno zoocutikum – hydrolyzovaný mořský kolagen získávaný z kůží volně žijících oceánských treskovitých ryb – jako relevantní alternativa ke kolagenu získávanému z hovězího a vepřového dobytka či drůbeže.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 TERMINOLOGIE PŘÍPRAVKŮ POUŽÍVANÝCH NA KŮŽI

Potřeba zkrášlovat, parfémovat nebo čistit lidské tělo provází člověka už od vzniku lidské společnosti, avšak až ve 20. století vznikly první regulace mající za úkol klasifikovat kosmetické přípravky včetně jejich funkce a zajistit bezpečnost jejich používání a ochranu spotřebitele. Ve Spojených státech amerických byly od roku 1938 uváděny na trh jen kosmetické přípravky, které byly pro spotřebitele bezpečné ze zdravotního hlediska. S enormně rostoucím počtem látek získávaných z průmyslových zdrojů dále vyvstala nutnost zavést klasifikaci a od roku 1966 bylo také vyžadováno uvádět informace o produktu na jeho obalu. V Evropě se kosmetické přípravky dočkaly regulace aplikací směrnice v roce 1976 [1, s. 1].

Spotřebitelé v dnešní době netouží pouze po zlepšení svého vzhledu, modifikaci či eliminaci tělesných pachů, ale vyhledávají produkty, které mají na kůži pozitivní vliv. Často jsou tedy vyhledávány produkty, které zvyšují hydrataci pokožky, zpomalují projevy stárnutí nebo chrání kůži před negativním působením vnějšího prostředí. Pro zajištění těchto funkcí, vyšší kvality a účinnosti přípravku jsou velmi hojně využívány suroviny různého původu s obsahem rozličných aktivních látek [1, s. 1].

### 1.1 Kosmetické přípravky

Definice kosmetických přípravků není po celém světě stejná, a tak některé přípravky, jako jsou šampony proti lupům, přípravky proti slunění nebo antiperspiranty, které jsou v Evropě řazeny mezi kosmetiku, jsou v USA vedeny jako léčiva [1, s. 825]

Evropské nařízení č. 1223/2009 uvádí, že kosmetický přípravek je *„jakákoli látka nebo směs určená 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, jejich udržování v dobrém stavu nebo úpravy tělesných pachů“* [2, L 342/64].

Přípravky jsou testovány na bezpečnost jejich použití, která je hodnocena na základě seznamu ingrediencí a mikrobiologické nezávadnosti [3]. Veškeré uváděné informace o kosmetickém přípravku musí být pravdivé. V případě tvrzení o účinnosti kosmetického přípravku musí být doloženy výsledky testů potvrzujících tuto účinnost. Součástí Zprávy o bezpečnosti kosmetického přípravku, jejíž vypracování je výše uvedeným nařízením

vyžadováno, jsou pak i výsledky hodnocení deklarované účinnosti produktů získané objektivní vědeckou metodou nebo případné studie na lidských dobrovolnících [2].

## 1.2 Kosmeceutika

Termín kosmeceutikum označuje produkty pečující o pleť, které kombinují vlastnosti kosmetických přípravků a léčiv, nicméně jako léčiva nejsou tyto produkty registrovány ani testovány. Kosmeceutika se vyznačují obsahem aktivních složek, které napomáhají zlepšení vzhledu a udržení zdraví pokožky, a proto mohou vykazovat lepší účinky než běžné kosmetické přípravky. Žádný zákon však tento termín nezná, a tak nejčastěji tyto produkty vystupují jako kosmetika, jejíž proces schvalování je pro kosmetické společnosti jednodušší než v případě léčiv. S tím souvisí levnější a rychlejší vývoj i testování kosmeceutik a nižší výsledná cena produktu. Spotřebiteli jsou díky jejich ceně, dostupnosti a v neposlední řadě slibované účinnosti velmi vyhledávané. Řada lidí s kožními problémy dává přednost vyzkoušení účinku takových přípravků před návštěvou dermatologické ambulance. Kosmeceutika jsou hojně využívána ke zpomalení stárnutí pleti a zlepšení stavu různých kožních onemocnění, jako je např. akné, růžovka nebo ekzém, kdy při zvolené kombinaci s léčivem může být dosaženo lepších výsledků [4, s. 1–3]. Řada kosmeceutik obsahuje složky, které jsou přítomny v registrovaných léčivech i preparátech vázaných na lékařský předpis, a proto není v budoucnu vyloučený přesun některých z nich do kategorie léčiv [3].

## 1.3 Zooceutika

Živočichové, kteří tvoří neodmyslitelnou část živé přírody, představují značný potenciální přínos pro řadu oblastí. Jedná se o říši velmi bohatou na látky s biologickou aktivitou, díky které mohou najít uplatnění v odvětvích, jako je farmacie nebo kosmetika. Významná část látek však zůstává nevyužita nebo neobjevena, neboť výzkum přírodních aktivních látek je cílen především na rostlinné zdroje. Nicméně moderními výzkumnými technologiemi jsou také odhalovány i neméně účinné molekuly živočišného původu, mnohdy pocházející i z exotických živočichů. Díky svému potenciálu mohou v budoucnu najít uplatnění v léčích nebo jako kosmetické ingredience [5, 6].

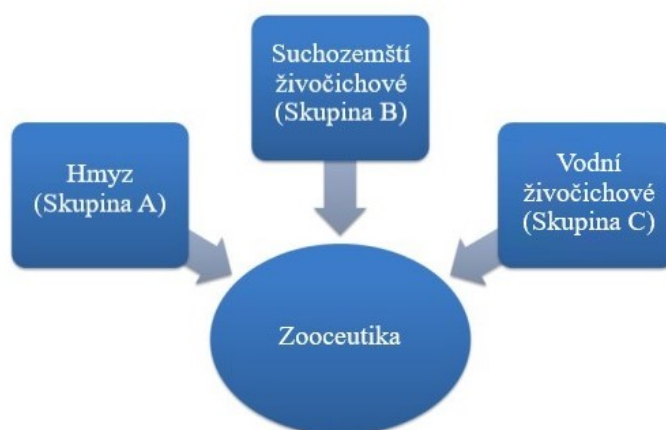
Poměrně málo rozšířeným pojmem zooceutikum se označují přípravky, které obsahují aktivní složky právě výše zmíněného živočišného původu. Díky tomu jsou zařazovány do kategorie přírodní kosmetiky [7].

## 2 KOSMETICKÉ INGREDIENCE ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU

V současné době není v kosmetickém průmyslu využívání látek živočišného původu tak rozšířené, jak tomu bývalo dříve. Mnoho spotřebitelů se spíše přiklání k rostlinným nebo syntetickým alternativám. Důvodem jsou hlavně etické aspekty společně s ochranou a podporou biodiverzity a ohrožených druhů. Dalším potenciálním problémem je riziko infekce nebo přenosu nemocí ze zvířat. Pokud mají být jako kosmetické přísady použity látky živočišného původu, musí, podobně jak tomu je u ostatních látek používaných v kosmetice, vyhovovat všem požadavkům na kvalitu, čistotu, bezpečnost použití bez zdravotního rizika, hygienu, nesmí být toxické a musí být bez nečistot [7].

Zatímco ve vyspělých zemích se více spotřebitelů přiklání k alternativám, které jsou etické a pochází z udržitelných zdrojů, v méně vyspělých zemích je používání výrobků s obsahem živočišných derivátů mnohem častější z důvodu nižší informovanosti populace. Nárůst počtu obyvatel i zvyšování nároků na kosmetiku vede k vyššímu množství substancí použitých v těchto přípravcích, a proto je čím dál více důležitý postoj lidstva k přírodě a její rozmanitosti. Neuvážlivé spotřebovávání živočišných zdrojů totiž negativně ovlivňuje životní prostředí, kdy dochází ke ztrátě biologické rozmanitosti, integrity a udržitelnosti ekosystémových funkcí [8].

Kosmetické ingredience živočišného původu je možné rozdělit do tří skupin. Jedná se o ingredience získané z hmyzu spadající do skupiny A, dále ze suchozemských živočichů, které bývají řazeny do skupiny B, a poslední skupina C zahrnuje ingredience z vodních živočichů. Schéma tohoto rozdělení je znázorněno na Obrázku 1 [7].



Obrázek 1 Rozdělení zoocutik podle živočišného původu – upraveno podle [7]

## 2.1 Ingredience hmyzího původu

Látky pocházející od hmyzu se ve většině případů získávají způsobem, kdy nemusí dojít k usmrcení zvířete. Využívány bývají zejména včelí produkty a produkty hedvábnického průmyslu [7]. Hmyz zároveň nabývá na atraktivitě kvůli relativně levnému chovu a současně vysoké hodnotě produkovaných molekul, mezi které patří lipidy, peptidy, proteiny, polymery a vitaminy [9].

### 2.1.1 Včelí produkty

Ke kosmetickým účelům se ze včelích produktů využívá med, propolis, včelí pyl, včelí chléb, mateří kašička, včelí vosk a včelí jed, z nichž každý má specifické složení i obsah aktivních látek. Chemické složení těchto produktů, které ovlivňuje jejich výsledné vlastnosti a způsob použití, se může lišit v závislosti na botanickém složení, geografickém původu, roční době a podmínkách daného prostředí [10].

#### Med

Hlavní složkou medu jsou sacharidy, z nichž okolo 75 % tvoří monosacharidy nejvíce zastoupené fruktózou a glukózou. Dále je přítomna voda, bílkoviny, kyseliny, vitaminy, minerální látky, barviva, fenolické sloučeniny a těkavé sloučeniny [11].

Významné jsou jeho antimikrobiální účinky a využívá se také pro urychlení hojení ran, jizev nebo popálenin [10, 12]. Studie [13] hodnotící účinky medových obvazů na rány po 3 a 6 měsících od chirurgického zákroku uvádí, že jizvy, na které byly v prvních 5 dnech od provedení zákroku aplikovány medové obklady, vykazovaly menší šířku a byly z estetického hlediska lépe hodnocené než jizvy, na které byly použity konvenční obklady.

V kosmetických přípravcích plní funkci emolientu nebo humektantu. Na pokožku působí velmi příznivě, vyživuje ji, zvyšuje její elasticitu, zpomaluje tvorbu vrásek a napomáhá v úpravě pH na mírně kyselé hodnoty [12]. Samotný med bývá v závislosti na formě kosmetického přípravku přítomen v různých koncentracích, avšak nejčastěji činí jeho obsah 1–10 % [14]. Posouzení vlivu přípravků s obsahem medu i dalších včelích produktů bylo cílem studie [14]. Tyto přípravky byly nanášeny na volární stranu předloktí 24 probandek ve věku 23–49 let. K nárůstu hydratace po 48 hodinách došlo u všech 8 použitých medových přípravků, nejvyšší zvýšení bylo pozorováno u přípravků s obsahem medového extraktu. Naměřena byla vyšší hydratační schopnost květového medu v porovnání s medem lesním.

Došlo ke snížení transepidermální ztráty vody (TEWL – Transepidermal Water Loss) a naměřené hodnoty pH se pohybovaly v mírně kyselé oblasti.

#### Propolis

Některé druhy včel, mezi které patří včela medonosná, produkují propolis. Jedná se o pryskyřičnou látku, která je včelami využívána pro utěsnění vnitřních částí úlu a pro svoje antimikrobiální schopnosti [15].

Složení propolisu je velmi různorodé, nicméně vždy jsou přítomny fenolické sloučeniny a flavonoidy [15]. V propolisu bývají dále obsaženy terpenové sloučeniny, alkoholy a také minerální látky, vitaminy nebo enzymy [10].

Svémi antioxidačními vlastnostmi napomáhá v prevenci i léčbě kožních onemocnění, zpomaluje stárnutí pleti a chrání před ultrafialovým (UV) zářením. Propolis lze pro své antimikrobiální účinky využít i pro léčbu akné [15]. Je prokázáno, že jeho použití zkracuje dobu hojení diabetických a venózních vředů, aft nebo popálenin [16]. Účinností propolisového extraktu proti stárnutí pokožky se zabývali An a kolektiv [17]. V jejich studii byly využity polymerní nanočástice obsahující propolisový extrakt k redukci vrásek v očním okolí u 24 dobrovolnic ve věku 30–65 let. Po 8 týdnech aplikace přípravku s obsahem těchto nanočástic byla zaznamenána redukce vrásek. Testy *in vitro* bylo zjištěno zvýšení produkce kolagenu v *dermis* a schopnost inhibice kolagenázy, která napomáhá degradaci kolagenu pomocí polymerních nanočástic s propolisovým extraktem.

#### Včelí pyl

Okolo 22 % pylu tvoří bílkoviny, dále jsou přítomny cukry, mastné kyseliny, nukleové kyseliny, vitaminy a minerální látky [10]. Za jeho biologickou aktivitu jsou odpovědné také fenolické látky, flavonoidy, antokyany a taniny [18].

V kosmetických přípravcích bývá včelí pyl obsažen v koncentraci do 5 %. Vykazuje účinky antioxidační, protizánětlivé nebo antimikrobiální. Zamezuje vzniku a dalšímu rozvoji plísní a je hojně používán v šamponech proti lupům, ale díky své schopnosti snižovat tvorbu mazu se vyskytuje i v přípravcích na mastné vlasy [10].

Kim a kolektiv [18] ve své studii prokázali antioxidační účinky včelího pylu a také jeho schopnost inhibovat aktivitu tyrozinázy, čímž lze zamezit nadměrné tvorbě a hromadění melaninu nebo zpomalení stárnutí kůže vlivem působení UV záření. Dále bylo zjištěno, že tyto testované vlastnosti závisí přímo úměrně na obsahu fenolických látek ve včelím pylu.

### Mateří kašička

V mateří kašičce se vyskytují převážně bílkoviny, sacharidy, tuky, vitaminy a minerály, ale také těkavé sloučeniny [10].

Koncentrace mateří kašičky v kosmetických přípravcích obvykle činí 0,5–1 % a tyto přípravky se vyznačují výraznou hydratační schopností. Díky své značné biologické aktivitě má i široké spektrum použití. Využívá se při zánětech ústní dutiny i hojení ran nebo popálenin, normalizuje tvorbu kožního mazu, pleť regeneruje a hydratuje [10].

Byla provedena studie [19] zabývající se snižováním syntézy melaninu za použití mateří kašičky. Vykonané testy prokázaly bezpečnost takového užití a potvrdily inhibici tyrozinázy mateří kašičkou, což mělo za následek snížení obsahu melaninu.

### Včelí vosk

Mezi látky, které jsou ve včelím vosku obsaženy, patří především estery vyšších mastných kyselin s alkoholy, volné mastné kyseliny a uhlovodíky. Přítomny bývají také triterpeny,  $\beta$ -karoten, těkavé sloučeniny, fenolické látky a flavonoidy [10].

Je typický tím, že má nižší biologickou aktivitu, než jakou vykazují ostatní včelí produkty. Využívá se při ošetřování ran, hojení vředů a pomáhá také při léčbě atopické dermatitidy, psoriázy nebo plenkové dermatitidy. Po aplikaci vytváří na pokožce film, kterým snižuje TEWL a chrání pokožku před vnějšími vlivy [10]. Jak samotný včelí vosk, tak v kombinaci s dalšími přírodními látkami vykazuje antimikrobiální účinky. Při léčbě povrchových kožních mykóz se osvědčila směs medu, včelího vosku a olivového oleje [20].

### Včelí jed

Významnou složku včelího jedu tvoří peptidy, enzymy, lipidy a bioaktivní aminy [21]. Z peptidů je důležitý zejména melitin, který má protizánětlivé, protinádorové a antimikrobiální účinky [22].

Bylo prokázáno, že včelí jed má významné účinky při léčbě některých onemocnění a zlepšování stavu pokožky. Podstatně zmírňuje akné, podporuje růst vlasů a napomáhá při léčbě psoriázy, atopické dermatitidy, hojení ran i redukci vrásek [10, 21].

Han a kolektiv [23] testovali působení séra s koncentrací 0,006 % včelího jedu na vrásky v periorbitální oblasti. Skupina 22 dobrovolnic ve věku 30–49 let si po dobu 12 týdnů dvakrát denně nanášela sérum na celý obličej. Vyhodnocení ve 12. týdnu ukázalo snížení celkové plochy vrásek, počtu vrásek i jejich průměrné hloubky.



### 2.1.2 Chitin

Po celulóze představuje chitin druhý nejčastěji se vyskytující biopolysacharid. Produkován je velkým množstvím živých organismů [9, 24]. Tento bílý, tvrdý a nepružný dusíkatý polymer je hlavní složkou exoskeletu členovců nebo buněčné stěny hub a kvasinek [9].

Z hlediska udržitelnosti a kvůli sezónnosti se exoskelet korýšů, zejména krabů a krevet, který je hlavním zdrojem chitinu pro komerční výrobu, nejeví jako nejideálnější a houby, které představují možnou alternativu, nebyly i přes značnou výtěžnost chitinu v průmyslovém měřítku zatím využívány. Další možností je právě využití hmyzu, v jehož kutikule se chitin nachází ve formě nanovláken obsažených ve vnitřní vrstvě kutikuly, kde svým uspořádáním a asymetrickou listovou strukturou určuje její pevnost a pružnost. Zdrojem hmyzího chitinu je například odpad z hmyzích farem, které bývají zaměřeny na produkci krmiva pro zvířata a likvidaci odpadu. Vzniklý odpad tvořený především z exuvií a uhynulých jedinců na konci svého životního cyklu je bohatý na chitin [9].

Chitin a jeho deriváty, z nichž je chitosan jedním z nejpoužívanějších, se vyznačují svými antioxidačními a antimikrobiálními vlastnostmi, biokompatibilitou, biodegradabilitou a netoxičností. Příprava chitosanu probíhá deacetylací chitinu. Může být prováděna deacetylací enzymatickou nebo chemickou, která je kvůli vyšší účinnosti častější. U chitosanu se určuje stupeň deacetylce, který dosahuje hodnoty 60–98 % a který má společně s molekulovou hmotností vliv na jeho rozpustnost a výsledné vlastnosti. Uvádí se, že účinnost chitosanu je v některých případech, jako je antimikrobiální účinnost, vyšší než u chitinu. V kosmetickém průmyslu je chitin spolu se svými deriváty ceněn pro významné hydratační schopnosti nebo zpomalení stárnutí pleti. Kvůli horší rozpustnosti bývá chitin převáděn na rozpustnější deriváty. Zmíněné vlastnosti umožňují jejich použití v kosmetických přípravcích pro péči především o pleť, ale také o vlasy, nehty, dutinu ústní a rty. Žádné studie, které by se zabývaly aplikací a účinností hmyzího chitinu, zatím dle zdroje [9] provedeny nebyly.

### 2.1.3 Sericin

Hedvábí pocházející od bource morušového je tvořeno především dvěma proteiny, a to sericinem a fibroinem. Fibroin tvoří dvojité vlákno, jež je obaleno a spojeno lepivými vrstvami sericinu. Tato struktura dává vzniku kokonu [25, 26]. Fibroin nachází uplatnění při výrobě lékařských a průmyslových materiálů a už po staletí zastává nezastupitelnou roli v textilním průmyslu při produkci přírodního hedvábí. Sericin je však nutné při tomto

procesu oddělit od fibroinu, a tak často nevyužitý bývá vypuštěn do odpadních vod. I přestože se v textilním průmyslu sericin zdá nepotřebným, jeho vlastnosti začínají být docenovány v jiných oblastech. Vyznačuje se vysokým obsahem aminokyselin, z nichž je nejvíce zastoupen serin a kyselina asparagová. Díky obsahu převážně polárních aminokyselin je hydrofilní [25]. Přítomnost aminokyselin je velmi důležitá pro jeho hydratační schopnosti, neboť aminokyseliny jsou součástí přirozeného hydratačního faktoru (NMF – Natural Moisturizing Factor) a ovlivňují obsah vody v kůži. Aplikace sericinového gelu na kůži vedla ke snížení impedance pokožky i TEWL, dále bylo zaznamenáno zvýšení množství hydroxyprolinu, což je přičítáno obnově této složky v NMF, a kůže byla vyhodnocena jako hladší a plnější [26]. Pozitivně působí také při hojení ran. Ošetření kožních ran pomocí 8% sericinového krému vedlo u potkanů k jejich rychlejšímu zhojení a snížení zánětlivých reakcí v porovnání s ranami, na které byl aplikován Betadine® [27].

Padamwar a kolektiv [26] testovali *in vivo* hydratační účinek sericinu. Studie se účastnili 3 muži a 3 ženy ve věku 22–25 let. Byly vytvořeny gely o koncentraci sericinu 1,5 % a 2 %, testování bylo prováděno na volární straně předloktí. Hodnota impedance, která je nepřímo úměrná množství vody v kůži, byla aplikací sericinového gelu výrazně snížena, což svědčí o vyšší hydrataci horní vrstvy kůže. Zjištěno bylo také snížení TEWL, pro jednotlivé koncentrace však ve výsledných hodnotách nebyl příliš výrazný rozdíl. Vyhotoveny byly také repliky kůže, ze kterých je patrné, že kůže je po 30 minutách od nanesení sericinového gelu hladší a jsou u ní redukovány jemné linie v porovnání s neošetřenou kůží.

V práci [28] byly použity emulze o koncentraci sericinu 2 %, 4 %, 6 %, 8 % a 10 % a ty byly aplikovány 20 dobrovolníkům o průměrném věku 26,7 let na kůži volárního předloktí. Zjištěna byla nízká hydratační účinnost těchto přípravků, avšak byl zaznamenán pokles TEWL. Tyto výsledky jsou připisovány vytvoření filmu na kůži. Tento film sice nepodpořil zvýšení hydratace, ale dopomohl ke zlepšení bariérových vlastností kůže.

#### 2.1.4 Pavoučí hedvábí

Mezi významné producenty hedvábí se řadí také pavouci. Z důvodu nemožnosti hromadného chovu pavouků však není využití jejich hedvábí příliš běžné a mnohem častěji je využíváno hedvábí domestikovaného bource morušového. Existuje spousta druhů pavoučího hedvábí s rozdílným chemickým složením, strukturou a funkcí, kdy konkrétní vlastnosti jsou vždy uzpůsobeny účelu použití. Pavouky bývá nejčastěji používáno na stavbu pavučin, jejich uchycení k pevnému podkladu, tvorbu kokonů nebo obalení kořisti [29]. Každý druh hedvábí

se tvoří v jiných žlázách. Nejpozoruhodnější vlastnosti vykazuje hedvábí, které pavouk používá jako záchranné lano. Jeho pevnost převyšuje pevnost oceli a vykazuje značnou roztažnost [30]. Díky výjimečným mechanickým vlastnostem, biokompatibilitě a pomalé biologické odbouratelnosti je jeho užití možné v biomedicínských aplikacích, a dokonce i ve stavebnictví. Co se týče kosmetiky, hedvábí může být použito jako součást šamponů, mýdel, krémů a laků na vlasy [31].

### 2.1.5 Karmín

Přírodní barvivo karmín, jehož hlavní barvicí složkou je kyselina karmínová, se získává ze sušených těl samic nopálovce karmínového. V závislosti na pH se odstíny pohybují od oranžové až po sytě červenou. Používá se k barvení nejen v kosmetice, ale i v potravinářství, farmacii nebo v textilním průmyslu. Tradiční extrakce představuje poměrně náročný proces, při němž nebývá dosaženo vysoké výtěžnosti a může docházet k přimísení toxických kovových iontů a alergenních proteinů do získávaného produktu kyseliny karmínové [32]. Právě tyto proteiny, které představují kontaminanty hmyzího původu, mohou u některých jedinců vyvolávat alergické reakce. Jsou hlášeny případy vzniku otoků, svědění a začervenání po použití dekorativní kosmetiky, jako jsou oční stíny, rtěnky, tvářenky nebo oční linky, s obsahem košenily [33].

## 2.2 Ingredience získávané ze suchozemských živočichů

Při formulování kosmetiky s obsahem látek ze suchozemských zvířat je buď možné využít vedlejší produkty masného a živočišného průmyslu, nebo je přímo pro jejich získání nutné usmrcení zvířete. Především v této skupině ingrediencí došlo k omezení používání některých látek, jako je cibetkový olej, z důvodu ochrany živočišných druhů, problematiky etického vztahu člověka ke zvířatům, ale také pro vyloučení rizika nákazy spotřebitele prostřednictvím surovin zvířecího původu, kdy mezi uvažovaná onemocnění patří transmisivní spongiformní encefalopatie nebo ptačí a prasečí chřipka. Většina dnes využívaných ingrediencí pochází z chovu skotu, ovcí nebo drůbeže [7].

### 2.2.1 Kyselina hyaluronová

Poprvé byla kyselina hyaluronová izolována v roce 1934 z hovězího sklivce. Tento glykosaminoglykan se vyskytuje u všech obratlovců a představuje hlavní součást extracelulární matrix většiny zralých tkání. Nachází se v očním sklivci, synoviální tekutině

nebo v kůži, kde je koncentrace hyaluronanu největší. Vyskytuje se jak v *dermis*, tak i v *epidermis* [34].

V kosmetice je kyselina hyaluronová známá především pro svoje hydratační vlastnosti díky schopnosti absorbovat značné množství molekul vody. Přírodní kyselinu hyaluronovou je možné získat z různých živočichů. Nejvyšších koncentrací tohoto polysacharidu je dosaženo při extrakci z kohoutích hřebínků, což je nerozšířenější způsob, ale kyselina hyaluronová může být získávána také z volat. Extrahována byla i ze synoviální tekutiny skotu, prasat a ovcí nebo ze sklivce prasat, opice a skotu [35]. Její značnou výhodou je, že není druhově specifická, tudíž představuje minimální riziko alergických reakcí. Také urychluje hojení ran, díky přítomnosti v synoviální tekutině se významně podílí na lubrikaci kloubních ploch a v neposlední řadě vylučuje volné radikály. Vyjma dynamických vrásek je možné všechny ostatní typy redukovat injekčními výplněmi kyseliny hyaluronové [36].

Draelos a kolektiv [37] zjišťovali účinnost séra kyseliny hyaluronové aplikovaného na pleť dvakrát denně po dobu 6 týdnů, kdy u vybraných účastnic ve věku 38–60 let byla před zahájením experimentu diagnostikovaná nedostatečně hydratovaná pleť se známkami fotostárnutí. Naměřené množství vody v kůži bylo ihned po aplikaci séra vyšší o 134 %. Měřením po 2 týdnech aplikace bylo zjištěno zvýšení o 15 %, po 4 týdnech byl obsah vody v kůži vyšší o 29 % a při posledním měření v 6. týdnu bylo pozorováno zvýšení o 55 % oproti původnímu stavu. Prokázalo se, že sérum s obsahem kyseliny hyaluronové mělo na kůži pozitivní účinky, nebyly zaznamenány žádné případy podráždění pokožky a vyhodnocením při posledním měření bylo dále zjištěno, že pokožka byla významně hladší, plnější, hydratovanější a došlo k redukci jemných linek i vrásek. Celkové zlepšení měřených vlastností kůže činilo 43 %.

V další studii [38] byl hodnocen vliv každodenního používání krému s kyselinou hyaluronovou na hloubku periorálních a periorbitálních vrásek, pevnost a pružnost pokožky. Testovány byly 4 běžně dostupné krémy z různých cenových kategorií značek Balea, Nivea, Lancôme a Chanel. Po tříměsíční aplikaci všech pleťových krémů bylo patrné zlepšení stavu pokožky, kdy vrásky byly redukovány přibližně o 10–20 % při nárůstu zpevnění pokožky o 13–30 %. Největší snížení hloubky periorálních vrásek nastalo po aplikaci krému Lancôme Hydra Zen Neurocalm, které činilo 26,1 %, a periorbitální vrásky byly nejvíce redukovány o 22,7 % za použití Chanel Le Lift Anti Wrinkle Cream. Naopak nejmenší vliv na vrásky měl krém Nivea Cellular Anti Age Tagespflege, kdy v periorální oblasti bylo jejich snížení 20,9 % a v periorbitální oblasti 9,8 %. Autoři ale připouští, že v těchto výsledcích může hrát

roli značka krému, kdy testované osoby prováděly aplikaci samy každé ráno, a tak mohly být dražší krémy používány častěji a s větší pečlivostí, než tomu bylo u krémů podstatně levnějších. Prokázalo se však, že bez ohledu na cenovou kategorii má pravidelné používání krémů, které obsahují kyselinu hyaluronovou, pozitivní účinky na stav pokožky i hloubku vrásek.

### 2.2.2 Hlemýžďí sliz

Sliz produkovaný hlemýžďí zastává u těchto zvířat řadu biologických funkcí, které zahrnují především mikrobiální ochranu a schopnost přilnout k povrchu, jenž je zároveň slizem zvlhčován. Epiteliálními buňkami tvořené muciny představují hlavní složku slizu a zároveň jsou odpovědné za jeho vlastnosti. Mucin vykazuje v závislosti na struktuře, kdy zásadní vliv má sekvence aminokyselin a glykosylace, různou biologickou aktivitu a fyzikální vlastnosti. Pro hlemýžďě jsou stěžejní antimikrobiální účinky slizu, neboť svalnatá noha, která je slizem pokryta, přichází do častého kontaktu s okolními povrchy, jež mohou být kontaminovány různými mikroorganismy. Jsou prokázány jeho schopnosti regenerovat kůži a urychlovat hojení ran [39]. Pro kůži jsou kromě mucinu prospěšné další látky hlemýžďího slizu, jako je alantoin, kolagen, elastin, kyselina glykolová a achacin, který společně s mucinem patří mezi glykoproteiny. Důležitou roli v kosmetických výrobcích sehraává alantoin, jehož deskvamace účinek napomáhá obnově pleti. Dále také podporuje hojení poranění kůže, zvyšuje obsah vody v extracelulární matrix a tvoří komplexy s dráždivými látkami. Kyselina glykolová snadno proniká do kůže, zvyšuje syntézu kolagenu a díky schopnosti inhibovat enzym tyrozinázu snižuje tvorbu melaninu [40].

Byla provedena studie [40] zabývající se hydratační účinností slizu hlemýžďě kropenatého. Připraveny byly krémy s hlemýžďím slizem o koncentraci 0 %, 2 %, 5 % a 10 %, kdy přidávané množství slizu bylo vztaženo k zjištěnému obsahu alantoinu a kyseliny glykolové v tomto slizu, a následně byly tyto krémy aplikovány na volární stranu předloktí 20 žen ve věku 20–65 let. Zaznamenáno bylo zvýšení TEWL u přípravků s obsahem 5 % a 10 % šnečího slizu po 1. hodině od aplikace. To je připisováno přítomnosti kyseliny glykolové, která v nízké koncentraci může oslabovat soudržnost horních vrstev pokožky a zvyšovat tak odpařování vody mezikorneocytovými prostory. U koncentrace 2 % šnečího slizu došlo po 1. hodině ke snížení TEWL a po 24 hodinách byl zaznamenán pokles hodnot u všech použitých koncentrací. Pro koncentrace šnečího slizu 2 %, 5 % a 10 % byla zjištěna výrazně vyšší hydratace při měření po 1. hodině i po 24 hodinách. Jako nejideálnější se tedy jeví použití krému s obsahem 2 % šnečího slizu.

### 2.2.3 Keratin

Jednou z nejdůležitějších strukturních bílkovin živočichů je keratin. Řadí se také mezi nejvýznamnější živočišné biopolymery, nachází se v drápech, kopytech, nehtech, rozích, peří, srsti, vlně nebo ve vlasech a bývá běžně přítomen v epitelálních buňkách vyšších obratlovců. Keratin se vyznačuje vyšším zastoupením cysteinu, než jaké je u jiných fibrilárních bílkovin, je chemicky i mechanicky odolný a nerozpustný ve většině organických rozpouštědel. Existují dvě formy keratinu, a to  $\alpha$ -keratin, který se vyskytuje především v srsti, vlasech, vlně nebo v kůži, a  $\beta$ -keratin přítomný v tvrdších derivátech, jako jsou šupiny, zobáky, drápy a peří [41, 42]. V kosmetických přípravcích jsou používány keratinové hydrolyzáty zejména v produktech na vlasy a pokožku. Fungují jako humektanty a přidávány bývají i do řasenek, mýdel nebo detergentů. Dalším možným využitím keratinu v kosmetice jsou keratinové peptidy, které podporují bariérovou funkci kůže, hydratují pokožku a snižují TEWL. Použití keratinových peptidů může přispívat k posílení nehtů a zvýšení lesku vlasů [41].

Ve studii [43] byl keratinový hydrolyzát získán z kuřecího peří a následně byl použit pro přípravu kosmetických formulací s obsahem 2 %, 4 % a 6 % keratinového hydrolyzátu. U těchto formulací byly dále zjišťovány účinky na kůži 20 dobrovolníků v čase 1, 2, 3, 4, 24 a 48 hodin od aplikace. Výsledky potvrdily hydratační schopnost keratinového hydrolyzátu, nejvyšší nárůst hydratace v porovnání s masťovým základem byl o 22 % po 1. hodině u 2% formulace. Pokles TEWL byl naměřen ve všech měřených časech a nejvýraznější byl zaznamenán po 48 hodinách u 6% formulace, kdy pokles byl 54 % vzhledem k samotnému základu. Rovněž ve studii [44] byl pozorován nejvyšší nárůst hydratace o 23 % po 1. hodině od aplikace u formulace s obsahem 2 % keratinového hydrolyzátu. Po 48 hodinách byla hodnota TEWL nižší o 32 % u 6% přípravku, zatímco větší snížení o 38 % bylo při použití 4% formulace a o 37 % pro 2% formulaci.

### 2.2.4 Prasečí placenta

Hlavním důvodem zájmu o placentu je její složení. Jedná se o zdroj cytokinů, hormonů, peptidů, enzymů, růstových faktorů, vitaminů a minerálních látek. Používání placenty je nejčastější v tradiční asijské medicíně, kde se využívá k urychlení hojení ran. Extrakt z prasečí placenty může být použit nejen při hojení kůže, ale i pro zvýšení hydratace a elasticity pleti a omezení tvorby vrásek. Prokázány byly také její antioxidační účinky [45].

Aioi a kolektiv [46] zjišťovali účinky aplikace extraktu z prasečí placenty na pleť. Účastnice studie byly ve věku 40–52 let a po dobu 6 týdnů si dvakrát denně aplikovaly přípravek s obsahem prasečí placenty na určenou polovinu obličeje. Bylo zaznamenáno snížení množství vrásek na 72,1 % oproti původnímu stavu a nárůst hydratace na 126,5 %. Nagae a kolektiv [45] hodnotili změny parametrů kůže po čtyřtýdenním perorálním užívání extraktu z prasečí placenty ženami ve věku 40–59 let. Nebyly však pozorovány zásadní rozdíly v hydrataci kůže ani v TEWL při porovnání hodnot naměřených u testovací a placebové skupiny.

### 2.2.5 Velbloudí mléko

Svým složením se velbloudí mléko odlišuje od mlék jiných savců. Obsahuje totiž relativně málo cholesterolu a cukru a je v něm přítomno vysoké množství minerálních látek, především hořčíku a zinku, vitamínu C a některých bílkovin, mezi které patří laktoferin, laktoperoxidáza, imunoglobuliny nebo lysozym. Naopak v jeho složení téměř chybí  $\beta$ -laktoglobulin, který se vyskytuje v kravském mléce. Významně jsou zastoupeny i  $\alpha$ -hydroxykyseliny, které se podílejí na zpevnění a vyhlazení pokožky a podporují její exfoliaci [47, 48]. Voda zaujímá okolo 87 %, avšak při dehydrataci zvířete se množství vody v mléce může zvýšit až na 91 % [47]. Pro kosmetické účely je možná příprava liposomů z mléka. Dále velbloudí mléko vykazuje antioxidační i antimikrobiální účinky, napomáhá zpomalovat stárnutí pleti a udržovat pokožku v dobrém stavu [47, 48]. Mezi nejčastěji vyráběné kosmetické přípravky s obsahem velbloudího mléka patří mýdla, krémy, šampony, lotiony nebo rtěnky [49].

### 2.2.6 Lanolin

Nažloutlý vosk z ovčí vlny, který je též nazýván lanolin, je látka, jejímž zdrojem jsou ovčí mazové žlázy. Nesprávně bývá někdy označován také jako vlněný tuk, avšak lanolin obsahuje především sterolové estery a estery glycerolu v něm přítomny nebývají. Lanolin v surovém stavu tvoří 5–25 % hmotnosti ostříhané vlny, která je získávána ze speciálně šlechtěných plemen ovcí. Bývá používán ve farmaceutickém průmyslu, kde bývá díky své nízké dráždivosti složkou očních mastí nebo kapek a také bývá nosičem v některých injekčně podávaných lécích. Jeho využití je také časté v kosmetickém průmyslu k prevenci nebo zlepšení stavu suché, šupinaté a podrážděné kůže. Hojně se používá v mast'ových základech, obvazech na popáleniny, k podpoře hojení ran nebo také jako emulgátor, stabilizátor a dispergační činidlo [50].

Byl zkoumán vliv přídavku ethoxylovaného a acetylovaného lanolinu na fyzikálně-chemické vlastnosti nanoemulzí i na jejich stabilitu a účinky na kůži. Zaznamenáno bylo zvýšení hydratace pokožky po aplikaci nanoemulze s přídavkem 6,0 % ethoxylovaného lanolinu i nanoemulze s 2,0 % acetylovaného lanolinu v porovnání s nanoemulzemi bez obsahu derivátů lanolinu. Nedošlo přitom k významným změnám hodnot pH kůže, které se po aplikaci přípravku pohybovaly kolem hodnoty 5,0; zároveň nebylo pozorováno žádné podráždění kůže [51].

### 2.3 Ingredience získávané z vodních živočichů

Nejčastěji používané kosmetické ingredience z mořských živočichů pochází z ryb a korýšů, kdy se většinou jedná o vedlejší produkty rybářského průmyslu. V luxusní kosmetice je možné setkat se i s dalšími méně běžnými přísadami, jako je plankton nebo extrakt ze sépií. Typicky zapáchající látka ambra, která je produkovaná ve střevech vorvaňů a své uplatnění má při výrobě parfémů, je v současné době často nahrazována syntetickými látkami, neboť je kvůli zákazu lovu vorvaňů možné ambra získat pouze v případě jejího vyvrhnutí zvířetem nebo z nalezených uhynulých jedinců [7].

#### 2.3.1 Chitin

Značné množství chitinu se nachází v řadě mořských živočichů, jako jsou měkkýši, hlavonožci nebo korýši, v jejichž schránkách je přítomen z 13–42 %. Jeho získávání je možné provádět demineralizací, deproteinací nebo bělením. Výroba chitosanu je následně prováděna chemickou nebo enzymatickou deacylací [52]. Chitosan je rozpustný v kyselých vodných systémech, chitin je však ve vodném prostředí nerozpustný [53].

S vyšší molekulovou hmotností chitosanu a jeho derivátů se pojí i lepší hydratace pokožky. Karboxymethyl chitosan je schopný tvořit gel, který zvláčňuje pokožku a chrání ji před okolním prostředím včetně kontaktu s detergenty [54]. Ve studii [55] je hodnocena bezpečnost a účinnost chitosanových ústních vod. Provedenými testy byla zjištěna nižší toxicita chitosanové ústní vody a zároveň výrazně vyšší antimikrobiální aktivita, než jakou vykazovaly testované komerční ústní vody.

#### 2.3.2 Kolagen

U živočichů představuje kolagen základní strukturní bílkovinu pojivových tkání a rovněž se jedná o nejrozšířenější složku extracelulární matrix [56, 57]. Tvoří až kolem 30 % celkového obsahu bílkovin většiny živočichů. Kolagen je složen ze tří polypeptidových řetězců, které



jsou pomocí vodíkových vazeb uloženy do trojitě šroubovice [56, 58, 59]. Toto uspořádání zajišťuje pevnost a pružnost pojivových tkání [58, 59]. Na základě odlišné struktury bylo doposud identifikováno 29 typů kolagenů [60]. U člověka však převažuje kolagen typu I, který představuje až 90 % veškerého kolagenu v lidském těle [58]. Jako slibný zdroj kolagenu se s ohledem na udržitelnost a efektivnější zpracování surovin jeví využívání vedlejších produktů rybolovu, kam patří především kůže, kosti, hlavy, ploutve a šupiny mořských ryb [56, 58, 59]. Vyznačuje se vysokou biokompatibilitou, díky čemuž je vhodný pro biomedicinské aplikace i kosmetický průmysl [56–61].

Při vývoji kosmetických přípravků jsou ceněny především hydratační účinky kolagenu a jeho schopnost působit proti tvorbě vrásek a stárnutí pokožky [56, 58]. Vykazuje filmotvorné vlastnosti, čímž napomáhá snížení TEWL [60]. Dále také zvyšuje pružnost, hebkost a lesk pokožky. Kolagen, který je součástí kosmetických přípravků, bývá nejčastěji izolován z kůže a šupin ryb [58]. Nejvíce používanými jsou kolagen typu I a II [59]. Pro formulaci kosmetického přípravku je nezbytné zvolení správného kolagenu a jeho kvalita, jež je kromě postupu izolace závislá také na druhu živočicha, ze kterého kolagen pochází, jeho stáří a místě odlovu [56].

Výsledky studie [56] potvrzují hydratační schopnost kolagenu typu I získaného extrakcí z kůže tresky obecné, kdy vzorky byly vystaveny relativní vlhkosti 30 %, 63 % a 98 %. Při těchto podmínkách byly vzorky schopny absorpce vody, jejíž míra závisela na množství vody obsažené v prostředí, a jejího udržení na konstantní hodnotě po dobu 24 hodin. Ověřilo se také, že tresčí kolagen nedráždí pokožku a je bezpečný pro použití v kosmetických formulacích.

Kůže halibuta grónského byla využita ve studii [58] k izolaci kolagenu typu I pro vyhodnocení jeho hydratační účinnosti v kosmetických přípravcích. Připraveny byly formulace o koncentraci 0,1 %, 0,25 % a 0,5 % a placebo představující gel bez přídavku kolagenu. Tyto přípravky byly aplikovány na předloktí 23 dobrovolníků ve věku  $41 \pm 12,6$  let. Hydratace pokožky byla měřena před nanesením přípravku a poté 2, 4, 8 a 24 hodin po jeho aplikaci. Naměřeno bylo mírné zvýšení hydratace pokožky po aplikaci všech přípravků s obsahem kolagenu, avšak nejlepší účinek byl zaznamenán u koncentrace kolagenu 0,25 % po 2 hodinách od nanesení přípravku a hydratace přetrvávala až do měření po 8 hodinách od aplikace dané formulace.

Kolagen typu I a II pocházející z chrupavky žraloka modrého byl ve studii [59] použit ke zkoumání vlivu na lidskou pokožku. Nachystán byl gelový základ, který byl zároveň využit jako placebo, z něhož byly připraveny formulace s koncentrací kolagenu 0,125 %, 0,25 %, 0,3125 %, 0,5 %, 0,625 %, 1 %, 1,25 %, 2 %, 2,5 %, 4 %, a 5 %. Studie se celkem účastnilo 66 dobrovolníků ve věku 18–25 let. Každá z 12 koncentrací byla testována na 11 dobrovolnicích, kdy na jednom účastníkovi byly vždy testovány 2 formulace, přičemž na každou volární stranu předloktí byla aplikována jiná koncentrace. Parametry pokožky byly hodnoceny po 10 a 20 minutách od aplikace přípravku. Bylo pozorováno zvýšení hydratace a zlepšení vzhledu pokožky, přičemž nejlepších výsledků bylo dosaženo za použití koncentrace 5 % kolagenu. U této koncentrace kolagenu byla také nejvíce patrná redukce vrásek a snížená produkce mazu.

Evans a kolektiv [62] hodnotili vliv dvanáctitýdenní konzumace kolagenního hydrolyzátu (KH) sladkovodní ryby pangase spodnookého ženami ve věku 45–60 let na stav pleti, zejména na množství vrásek. Po 12 týdnech užívání 10 g práškového KH byl zaznamenán úbytek vrásek o 17 % na levé straně obličeje a o 35 % na pravé straně obličeje oproti předchozímu stavu. Při vlastním hodnocení ve 12. týdnu uváděly dobrovolnice lepší hydrataci, elasticitu, zářivost i pevnost pokožky, redukci vrásek a celkové zlepšení stavu pleti.

Izolaci a charakterizaci vlastností kolagenu z mořské houby *Chondrosia reniformis* provedli Swatschek a kolektiv v první části své studie [63]. Druhá část studie byla zaměřena na ověření příznivých vlastností uvedené houby na kůži. Dobrovolníkům ve věku 24–52 let byly na volární stranu předloktí nanесeny vytvořené formulace a v čase 1, 3 a 6 hodin po aplikaci byla zjišťována hydratace, pH a kožní maz pokožky. Měřením nebyla zaznamenána výrazná změna pH kůže, zvýšení hydratace bylo jen malé, hodnoty kožního mazu byly vyšší po 1. hodině od aplikace, ale po 3 i 6 hodinách byly hodnoty sníženy na hodnotu jen o málo vyšší, než jaký byl původní stav.

Ze studie [64] vyplývá, že jako zdroj kolagenu lze využít také medúzy. Konkrétně byl zkoumán kolagen extrahovaný z příústních ramen kořenoústky plicnaté a byl potvrzen podobný vliv na lidské buňky jako u potkaního kolagenu typu I a zároveň také bezpečnost využití kolagenu z medúzy v biomedicínských aplikacích. Krishnamoorthi a kolektiv [65] se zabývali získáváním a charakterizací kolagenu z kůže *Sepia pharaonis*. Kůže sépií se vyznačuje svojí tloušťkou a při průmyslovém zpracování je považována za odpad. Studie potvrdila možnost izolace kolagenu typu I z kůže sépie a jeho potenciální využití

v potravinářství, kosmetice nebo biomedicínských aplikacích. Jiná studie [66] byla zaměřena na získávání a prověření vlastností kolagenu z hvězdice amurské, jejíž tělní stěna je na kolagen bohatá. Porovnáním s telecím kolagenem typu I byla zjištěna jejich vzájemná podobnost. Nebyly zde zaznamenány žádné negativní reakce v souvislosti s biokompatibilitou s lidskými kožními buňkami.

### 2.3.3 Rybí olej

Esenciální nenasycené mastné kyseliny, které jsou hojně obsaženy v rybím oleji, působí blahodárně na lidské zdraví, mají příznivý vliv na nervovou, smyslovou, oběhovou i kožní soustavu. Jedná se především o kyselinu dokosahexaenovou (DHA), eikosapentaenovou (EPA),  $\alpha$ -linolenovou a linolovou, jejichž množství je u mořských ryb vyšší než u ryb sladkovodních. Tyto mastné kyseliny mohou také přispívat ke zpomalení projevů stárnutí kůže, zlepšení stavu atopické dermatitidy i psoriázy nebo napomáhat v hojení kožních ran a snižování tvorby melaninu. Naopak jejich nedostatečný příjem může zapříčinit zvýšení TEWL a zhoršení funkce kožní bariéry. V *epidermis* je z mastných kyselin nejvíce zastoupena kyselina linolová, která může zároveň vystupovat jako prekurzor ceramidů. Kyselina  $\alpha$ -linolenová se kromě rybího oleje vyskytuje také v rostlinných olejích, zooplanktonu a fytoplanktonu, je prekurzorem EPA a DHA, které jsou nejvíce využívány v prevenci neurodegenerativních onemocnění, a napomáhá zmírnění zánětlivých onemocnění kůže. Zdroje rybího oleje jsou poměrně pestré, a tak i složení oleje je rozdílné v závislosti na druhu ryb a místě jejich výskytu. Pro aplikace na kůži je nejdůležitější přítomnost vyššího procenta polynenasycených mastných kyselin, nicméně na jeho účinnosti se mohou podílet i další složky oleje, jako jsou retinol nebo vitamin D [67].

Puglia a kolektiv [68] se zabývali protizánětlivými vlastnostmi mastných kyselin EPA a DHA z olejových extraktů pocházejících z makrely obecné, sardinky obecné a ostroretky stěhovavé. Všechny testované oleje obsahovaly značné množství EPA i DHA, avšak obsah obou mastných kyselin byl nejvyšší v oleji ze sardinky obecné, u kterého byl rovněž *in vitro* prokázán nejlepší průnik kůži v porovnání s ostatními zkoumanými oleji. U 10 dobrovolníků ve věku 25–35 let byla posuzována schopnost 3 formulací zmírnit kožní erytém vyvolaný zářením UVB, kdy u každého dobrovolníka byl použit dvojnásobek minimální erytémové dávky. Jednalo se o extrakt sardinkového oleje, ketoprofen, který je používán pro zmírnění zánětlivých onemocnění kůže, a kombinaci sardinkového oleje s ketoprofenem. Zmenšení intenzity kožního erytému bylo dosaženo po aplikaci všech testovaných přípravků,

nejvýraznějším efektem bylo snížení o 60,5 % u přípravku obsahující sardinkový olej s ketoprofenem.

Ve studii [69] byl hodnocen vliv perorálně podávaného rybího oleje na acetonem vysušenou kůži potkanů. U skupiny potkanů, která po dobu 90 dní užívala rybí olej, byla zaznamenána rychlá obnova kožní bariéry po jejím poškození acetonem a snížení TEWL na původní hodnoty již po 1. hodině při měření po 90 dnech. Zato skupina bez konzumace rybího oleje měla při stejném měření hodnoty TEWL zvýšené po dobu 48 hodin od aplikace acetonu. Podávání rybího oleje také zvyšovalo hydrataci kůže.

#### 2.3.4 Ambra

Sekret střeva vorvaně obrovského je již po staletí používán jako vůně živočišného původu. Většina ambry, jak je tento voskovitý sekret nazýván, bývá nalezena v Baltském moři nebo na jeho pobřeží [70]. Vzniká pravděpodobně jako důsledek dráždění trávicího ústrojí nestravitelnými a ostrými částmi potravy, jako jsou zobáky hlavonožců. Některé teorie uvádí, že se jedná o patogenní sekret, a pokud se zvířeti nepodaří vzniklou hmotu vyloučit, dojde k jeho úhynu. Produkovány jsou různé druhy ambry v závislosti na potravě zvířete, a tak ambry pocházející z různých oblastí vykazují odlišné vlastnosti. Mezi další faktory patří stáří a životní podmínky, které mohou také významně ovlivňovat vlastnosti ambry a její použití. Zatímco čerstvá ambra je černá a měkká s nepříjemným zápachem, po dlouhodobém působení slunce, mořské vody a vzduchu dochází k jejímu zesvětlení, ztvrdnutí a ke změně vůně. Pro tvorbu tinktur má největší hodnotu ambra nalezená na mořském pobřeží, jelikož na ni po dlouhou dobu působily podmínky prostředí, čímž došlo k vybudování kvalitní charakteristické vůně. Nejcennější a nejvíce používaná v tinkturách je tedy ambra bílé barvy. Tinkтуры jsou nejčastěji připravovány macerací v alkoholu, kdy doporučená doba luhování je minimálně 3 měsíce [71]. Vůně ambry je charakterizována jako jemná, sladká, připomínající mořské řasy a mech. Hlavní složení ambry tvoří fekální proteiny, které představují 40–60% podíl, a z 25–54 % je zastoupen triterpen ambrein. Typický odér je však následkem oxidačního rozkladu, kdy vznikají vonné sloučeniny ambroxiny. Velmi důležitou látkou je kvůli své vůni a fixačním vlastnostem ambrafuran, v dnešní době je však upřednostňováno použití syntetického nebo polosyntetického ambrafuranu [70].

#### 2.3.5 Sépiový inkoust

Inkoustová žláza je orgán produkující inkoust, který sépii slouží jako obranný prostředek. Pro inkoust je charakteristické jeho tmavé až černé zbarvení, které je dáno především

přítomností melaninu, z něhož má největší zastoupení eumelanin [72]. Díky svému zbarvení přitahuje inkoust značnou pozornost pro využití v různých odvětvích. Neifar a kolektiv [73] použili barvivo z inkoustu sépie obecné pro výrobu dekorativní kosmetiky. Připravována byla černá řasenka a černé oční stíny. Řasenky, v kterých bylo obsaženo 10 % černého sépiového inkoustu, neposkytovaly dostatečnou kryvost ani barevnou intenzitu. Upravené formulace, u nichž byla barvicí část tvořena 7 % černého sépiového inkoustu a 3 % oxidu železitého, nebo 3 % kostní černě, však vykazovaly lepší vlastnosti. Při použití oxidu železitého byla výsledná barva řasenky antracitově šedá a obsah kostní černě dával intenzivní černou barvu produktu. Kombinace barviv se také osvědčila z důvodu, že výsledné formulace měly lepší krycí schopnost a roztíratelnost než první formulace s 10 % černého inkoustu. Pro přípravu očních stínů bylo v jedné formulaci použito 17 % černého inkoustu a ve druhé 20 % grafitové černě. Obsah černého inkoustu zajistil ocelově šedou barvu vytvořených stínů s dobrou roztíratelností, krycí schopností i odolností proti rozbití.

### 3 SHRnutí SOUČASNÉHO STAVU ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY A CÍLE PRÁCE

Vzhledem k rychlosti vývoje kosmetického průmyslu je stále větší snaha poskytnout spotřebitelům produkty, které jsou atraktivní, snadno aplikovatelné, kvalitní z hlediska užitých surovin i použitelnosti a cenově dostupné. Především u pečující kosmetiky je důraz kladen také na účinnost a schopnost přípravků pomoci řešit konkrétní potřeby nebo problémy pokožky, mezi které nejčastěji patří suchá, mastná nebo citlivá pleť, akné, vrásky nebo pigmentové skvrny, pro dosažení lepšího vzhledu a stavu pokožky. Využití některých látek získaných ze zvířat má v kosmetických aplikacích dlouhou tradici s prokázanými účinky na stav pokožky.

Mezi nejvíce používané látky živočišného původu v kosmetických přípravcích se značnou hydratační schopností patří kolagen, kyselina hyaluronová a sericin. Běžné jsou také přípravky s medem nebo keratinem. Další funkcí kyseliny hyaluronové v pleťových přípravcích je zpevnění pleti a redukce jemných vrásek. Mnohé studie potvrdily její kosmetickou účinnost a tím i podpořily její další využívání [37, 38]. V případě sericinu nebylo ve studiích [26] a [28] pozorováno výrazné zlepšení hydratace. Na pokožce ale tvoří okluzivní film, díky kterému dochází ke snížení TEWL, což bylo prokázáno v obou studiích. Med kromě hydratace také napomáhá redukci vrásek, zvláčnění pokožky, díky antioxidačním a antimikrobiálním vlastnostem napomáhá hojení pokožky a snižuje její podráždění [12]. Míra účinnosti však závisí na konkrétním medu a podmínkách jeho vzniku. Pro kosmetické využití se ukázal z důvodu větší hydratační účinnosti lepší med květový než lesní [14]. Keratin se často vyskytuje nejen v produktech péče o pokožku, ale i v přípravcích na vlasy nebo nehty. Podobně jako sericin podporuje keratin správnou funkci kožní bariéry [41].

Vodní živočichové představují důležitý zdroj kolagenu, neboť může být získáván z málo využívaných vedlejších produktů rybářského průmyslu, které jsou na kolagen bohaté. Jedná se zejména o kůži, šupiny, kosti nebo vnitřnosti. Tím by se také snížilo množství odpadu, které se při průmyslovém zpracování vodních živočichů tvoří. Doloženy jsou schopnosti kolagenu pokožku hydratovat, zvyšovat její elasticitu i pevnost a také zpomalovat stárnutí pleti a tvorbu vrásek [58]. Příznivé dopady na kůži byly zaznamenány při topické aplikaci i perorálním užíváním kolagenu. Díky svým výjimečným vlastnostem je předurčen do pečujících přípravků zejména o zralou pleť s kosmetickým přesahem.

Právě z důvodu výše popsaných příznivých účinků kolagenu na pokožku je cílem bakalářské práce ověření vlivu aplikace kolagenního hydrolyzátu pocházejícího z oceánských treskovitých ryb na pokožku periorbitální oblasti *in vivo* bioinženýrskými neinvazivními diagnostickými metodami a obohatit tak o další poznatky výsledky již provedených studií s kolagenem různého původu [56–59, 62–66, 74–76].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**



## 4 METODIKA PRÁCE

### 4.1 Materiály, chemikálie a pomůcky

- rybí kolagen Premium dle INCI *Marine Hydrolyzed Collagen* (dodavatel Nature Store, Česká republika [77]; výrobce Kenney & Ross Limited, Kanada [78])
- karbopolový gel CarbopolFarm®; složení: *Aqua, Carbomer, Methylparaben, Propylparaben, Triethanolamine* (Fagron, Česká republika)
- kádinky, tyčinky, lžičky, buničina, nůžky, pinzeta
- destilovaná voda
- micelární voda Uriage (Laboratoires dermatologiques d'URIAGE, Francie)
- dvousložkový silikon pro vyhotovení replik (Courage & Khazaka, Německo)
- pomůcky pro přípravu silikonových replik: oboustranně lepicí formy, jednostranně lepicí krycí fólie, papírové šablony pro připevnění vytvořených replik, plastové míchací nádoby a tyčinky

### 4.2 Přístroje

Příprava formulací:

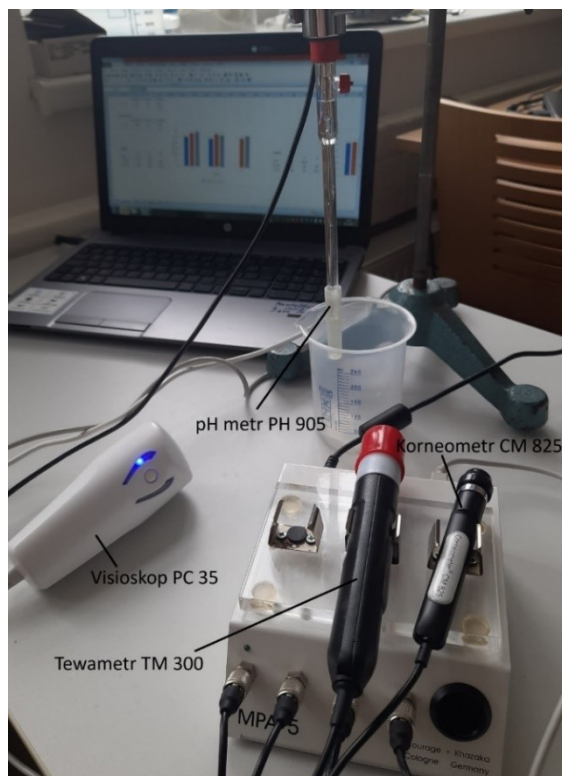
- analytické váhy Nimbus (Adam Equipment, Velká Británie)

*In vivo* diagnostika:

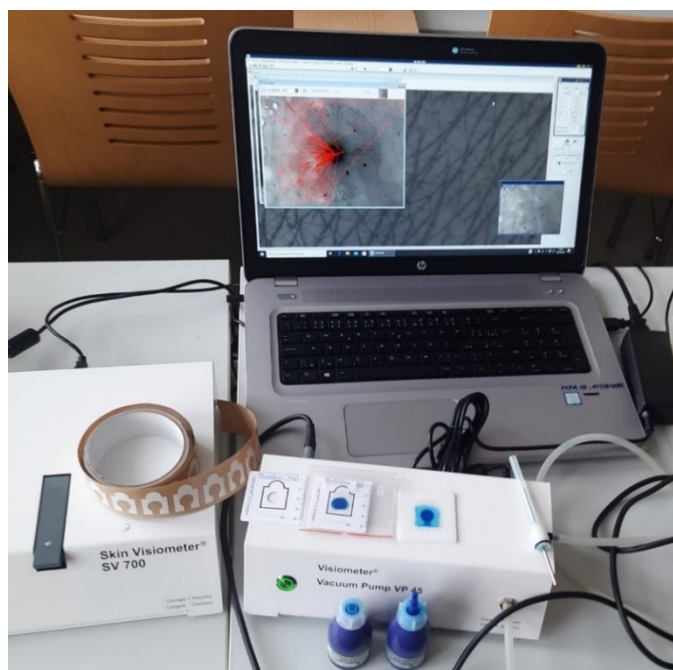
- MPA 5 stanice (Multi Probe Adapter) se sondami korneometr CM® 825, tewametr TM® 300 a pH® metr PH 905 (Courage & Khazaka, Německo) viz Obrázek 2
- Visioskop® PC 35 a software Skin Competence System (Courage & Khazaka, Německo) viz Obrázek 2

Snímání replik:

- Visiometr® SV 700 a vakuová pumpa VP 45 s ručním míchacím zařízením a mechanickým pedálem (Courage & Khazaka, Německo) viz Obrázek 3



Obrázek 2 Visioskop<sup>®</sup> PC 35 a MPA 5 stanice se sondami



Obrázek 3 Visiometr<sup>®</sup> SV 700 s vakuovou pumpou a pomůckami pro zhotovení silikonových replik

Stanovení distribuce molekulových hmotností:

- Waters HPLC Breeze, diferenciální refraktometr (Waters, model 2414)
  - Analytická kolona: OHPak SB-806M HQ (300 x 8 mm, 13  $\mu\text{m}$ ) + OHPak SB-804 HQ (300 x 8 mm, 10  $\mu\text{m}$ )
  - Mobilní fáze: 0,1M fosfátový pufr pH 6,8
  - Teplota: 40 °C
  - Objem nástřiku: 100  $\mu\text{l}$
  - Průtok: 1  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$
  - Software pro zpracování dat: Empower
  - Systém byl kalibrován pomocí standardů pullulanu v rozsahu 667–344 000  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

### 4.3 Stanovení distribuce molekulových hmotností

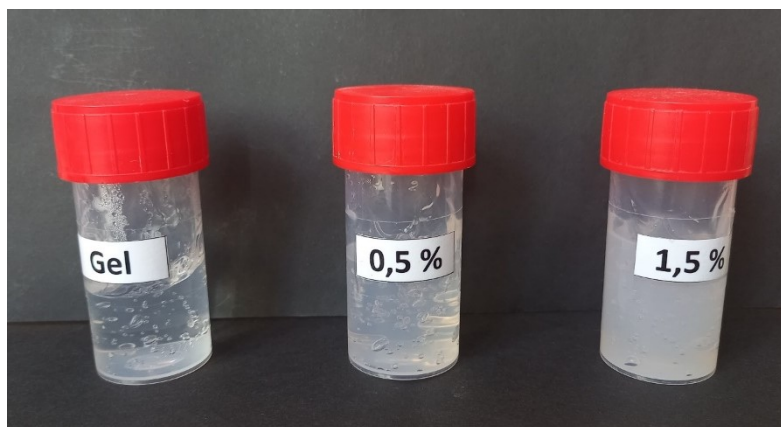
Stanovení distribuce molekulových hmotností kolagenního hydrolyzátu pomocí gelové permeační chromatografie s refraktometrickou detekcí (GPC-RID) bylo provedeno ve spolupráci s Centrem polymerních systémů při UTB.

Ze sypkého vzorku kolagenu byly odváženy 2 mg analytického vzorku, které byly rozpuštěny v 1 ml mobilní fáze v uzavřené vialce při laboratorní teplotě po dobu 4 hodin. Výsledná koncentrace analytu v roztoku tedy byla 2  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Vzorek byl analyzován ve třech opakováních.

### 4.4 Příprava gelových formulací

Byly připraveny dvě formulace s obsahem kolagenního hydrolyzátu o koncentraci 0,5 % a 1,5 %. Samotný karbopolový gel bez přídavku hydrolyzátu byl využit jako placebo. Všechny testované formulace ukazuje Obrázek 4. Do plastových kádinek byla na analytických vahách navážena příslušná množství kolagenního hydrolyzátu a poté doplněna karbopolovým gelem tak, aby celková hmotnost formulace činila 200 g. Tyčinkou byly připravené formulace promíchány a pomocí lžičky byla následně každá formulace včetně čistého gelu rozdělena do 5 kelímků. Kelímky byly popsány a skladovány v lednici až do jejich předání dobrovolnicím. Hodnota pH samotného gelu byla 4,7, gelová formulace

s obsahem 0,5 % kolagenního hydrolyzátu měla pH 4,5 a pH formulace s 1,5 % kolagenního hydrolyzátu činilo 4,7.



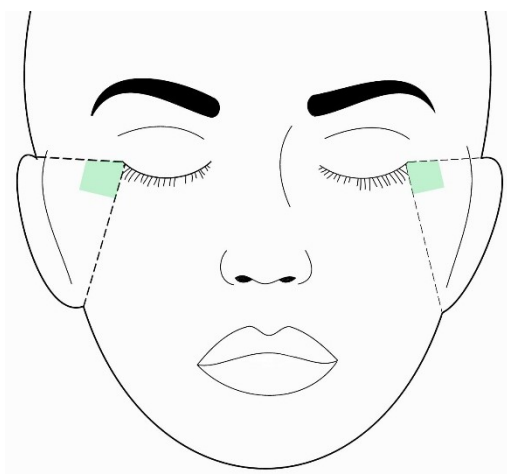
Obrázek 4 Testované formulace

#### 4.5 Soubor dobrovolnic

Dobrovolnice ve věku  $46,0 \pm 1,3$  roky účastníci se tohoto měření byly rozděleny do 3 skupin. První skupině, kam bylo zařazeno 5 žen ve věku  $45 \pm 3$  roky, bylo přiděleno placebo. Formulace s přidavkem 0,5 % kolagenního hydrolyzátu byla přidělena 5 dobrovolnicím ve věku  $46 \pm 3$  roky a dalším 5 dobrovolnicím ve věku  $47 \pm 3$  roky byla přidělena formulace s přidavkem 1,5 % kolagenního hydrolyzátu.

#### 4.6 Organizace a podmínky měření

Před zahájením experimentu bylo provedeno seznámení dobrovolnic s průběhem měření, podepsaly prohlášení účastníka studie (Příloha P I), informovaný souhlas (Příloha P II) a vyplnily dotazník týkající se jejich zdravotního stavu (Příloha P III). Byly jim přiděleny příslušné koncentrace kolagenního hydrolyzátu a tyto formulace si aplikovaly každé ráno a večer na periorbitální oblast po dobu 2 měsíců, viz Obrázek 5. Po tuto dobu nemohly na danou oblast aplikovat jiné kosmetické přípravky.



Obrázek 5 Měřené periorbitální oblasti obličeje dobrovolnic

Pro zjištění účinnosti kolagenního hydrolyzátu na kůži byla provedena 3 měření. Tato měření byla realizována od listopadu 2022 do března 2023. První měření bylo uskutečněno před začátkem používání připraveného gelu; po 4 týdnech, kdy byl gel aplikován na kůži v periorbitální oblasti, proběhlo druhé měření a třetí měření se konalo po dalších 4 týdnech od druhého měření. Všechna měření byla zrealizována ve stejné laboratoři při teplotě  $24,1 \pm 0,2$  °C a relativní vlhkosti  $33,3 \pm 0,9$  %, kde dobrovolnice strávily vždy před zahájením měření 15 minut kvůli aklimatizaci.

Stav pokožky byl kvantifikován monitorováním hydratace, TEWL a pH. Při prvním a posledním měření byl sejmutožní mikrorelief prostřednictvím silikonových replik a vytvořeny snímky pokožky s následným vyhodnocením množství vrásek.

Měření hydratace bylo prováděno pomocí korneometrické sondy CM<sup>®</sup> 825. Sonda byla přiložena na periorbitální oblast a vyvinutím jemného tlaku byla zaznamenána příslušná hodnota hydratace. Tímto způsobem bylo odečteno 5 hodnot pro levou stranu a 5 hodnot pro pravou stranu obličeje, které byly použity k vyhodnocení. Ze získaných hodnot hydratace je možné vyhodnotit stav pleti. Jestliže je hydratace nižší než 30 korneometrických jednotek (k. j.), jedná se o velmi suchou pokožku. Hodnoty v rozmezí 30–45 k. j. značí suchou pokožku a hydratace vyšší než 45 k. j. znamená pokožku dostatečně hydratovanou [79].

Jako druhé v pořadí probíhalo měření hodnoty TEWL sondou tewametr TM<sup>®</sup> 300. Po přiložení sondy na testovanou oblast a její aktivaci bylo snímáno 15 hodnot epidermální ztráty vody. Pro statistické zpracování bylo u každé z účastnic zanedbáno prvních pět hodnot z důvodu vyrovnání kolísajících hodnot ovlivněných rozdílem teploty a vlhkosti mezi

povrchem rohové vrstvy a prostředím komůrky sondy. Měření bylo opět provedeno na obou stranách obličeje. Hodnoty pohybující se v rozmezí 0–10 g·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup> představují velmi dobrý stav, hodnoty 10–15 g·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup> dobrý stav, rozsah 15–25 g·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup> znamená normální stav, napjatému stavu pokožky odpovídají hodnoty 25–30 g·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup> a jako kritický stav jsou označovány hodnoty nad 30 g·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup> [80].

Následovalo použití pH<sup>®</sup> metru PH 905, pro každou stranu obličeje byly v měřené oblasti zaznamenány 3 hodnoty. Fyziologickému pH kůže odpovídají hodnoty 4,5–5,5 [81].

Při prvním a třetím měření byly pomocí kamery Visioskop<sup>®</sup> PC 35 pořízeny obrazy ve vymezené části periorbitální oblasti, u nichž bylo softwarem analyzováno množství vrásek.

Před snímáním reliéfu kůže, které bylo rovněž prováděno pouze při prvním a posledním měření, byla pokožka v periorbitální oblasti očištěna micelární vodou. Na měřenou oblast obou stran obličeje byla přilepena lepicí forma ohraničující místo následného nanesení silikonu. Tento silikon byl vytvořen smícháním silikonové báze a katalyzátoru v plastové nádobce v poměru 1:1 pomocí vakuové pumpy s míchacím zařízením, která odsávala vzduch. Nanesený silikon byl ihned překryt krycí fólií a nechal se 10 minut tuhnout. Vyhotovená replika byla nalepena na papírovou šablonu popsanou příjmením dobrovolnice, měřenou stranou a datem měření a následně vložena do zkalibrovaného přístroje Skin-Visiometr<sup>®</sup> SV 700. Strana s připevněnou krycí fólií směřovala ke zdroji světla. V příslušném programu byl pořízen 2D a 3D obraz snímané oblasti a byla zaznamenána odpovídající data.

#### 4.7 Zpracování naměřených dat

Vyhodnocení získaných dat bylo provedeno prostřednictvím programu Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, USA). Pro biofyzikální parametry hydratace, TEWL, pH a vrásky byl vždy spočítán aritmetický průměr (1) a směrodatná odchylka (2) pro pravou a levou periorbitální oblast obličeje za všechny dobrovolnice následovně:

$$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i \quad (1)$$

Kde:

$\bar{x}$  – aritmetický průměr,

N – počet měření,

$x_i$  – hodnota měření.

$$s = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (2)$$

Kde:

$s$  – směrodatná odchylka,

$N$  – počet měření,

$\bar{x}$  – aritmetický průměr,

$x_i$  – hodnota měření.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Obrovský potenciál aktivních látek pocházejících z mořských živočichů byl až donedávna opomíjen. Přitom se jedná o velmi pestrou skupinu látek, jejichž rozmanitost a výjimečné vlastnosti jsou s největší pravděpodobností dány nutností adaptace živočichů na mnohdy drsné podmínky mořského prostředí. Příležitost k docenění jejich potenciálu je právě v souvislosti s využitím v kosmetických přípravcích, neboť mnoho těchto látek podporuje metabolismus pokožky a zvyšuje produkci fibroblastů a elastinu. Podporují však řadu dalších procesů, jako je vyhlazení a hydratace pokožky, zmírnění zánětů, podpora hojení ran a také působí jako antioxidanty [82, s. 403]. V současné době tak roste snaha o využití těchto zdrojů zejména v souvislosti s jejich získáváním z vedlejších produktů mořského zpracovatelského průmyslu, který produkuje nadměrné množství odpadu. Má tedy smysl zabývat se způsobem, jak tento problém, nejlépe udržitelným způsobem, vyřešit a podpořit efektivnější využívání částí neužitečných v potravinářství s minimalizací jejich odpadu. Vzhledem k dostupnosti těchto vedlejších produktů a zmíněným příznivým vlastnostem a účinkům na kůži se jako výhodné jeví jejich začlenění do komerčních přípravků péče o pleť [76].

V této části je provedeno shrnutí výsledků *in vivo* testování formulací s obsahem 0 %, 0,5 % a 1,5 % hydrolyzovaného mořského rybího kolagenu potravinářské čistoty [78]. Výrobce je tento KH doporučen pro použití v potravinářství, pro přípravu nutraceutických přípravků nebo právě kosmetiky. Hodnota pH tohoto kolagenního hydrolyzátu je 5,0–6,5 při koncentraci 10 % a teplotě 30 °C [78]. Přídavkem KH do gelového základu nedošlo k významným změnám hodnot pH, které jsou uvedeny v kapitole 4.3. Dodavatel používáním KH deklaruje zvýšení produkce vlastního kolagenu, udržení pevnosti a pružnosti pokožky, redukci vrásek, dlouhodobou hydrataci, rozjasnění a sjednocení barvy pleti včetně omezení tvorby pigmentových skvrn [77]. Důležitou vlastností z hlediska působení na kůži je molekulová hmotnost, která nebyla výrobcem hydrolyzátu v materiálovém listu uvedena. Provedené stanovení distribuce molekulových hmotností je předmětem kapitoly 5.6. Kolagen se na rozdíl od glycerinu nebo močoviny řadí mezi humektanty s vyšší molekulovou hmotností, a tak nedochází k jeho prostupu do rohové vrstvy kůže, ale naopak zůstává na jejím povrchu, kde hydrataci kůže napomáhá prostřednictvím vázání vody. Vzhledem k rozmanitosti mořských živočišných zdrojů kolagenu s rozdílnými vlastnostmi je při použití nejen v kosmetických aplikacích, ale i s přesahem kosmetického působení vhodné provést charakterizaci a posouzení kvality daného kolagenu, jelikož např. i zmíněná distribuce



molekulové hmotnosti se může různit. Souhra takovýchto odlišností má pak za následek také různou absorpci přípravků kůži a různé ovlivnění jejich vlastností [56, 63]. Proto se nabízí provedení dalších studií zaměřujících se na účinky kolagenu z jiných mořských zdrojů na kůži.

## 5.1 Účinek kolagenních formulací na hydrataci

Sonda korneometru funguje jako kondenzátor, který je schopen při nízké frekvenci (40–75 Hz) citlivě reagovat na relativní dielektrickou konstantu (permitivitu) kontaktního materiálu. Zvýšením obsahu vody ve *stratum corneum* dojde k nárůstu relativní permitivity během 20 ms, které je vyhodnoceno v korneometrických jednotkách [83].

Výsledky korneometrického měření hydratace pokožky byly v podobě průměrných hodnot a směrodatných odchylek pro jednotlivé formulace s obsahem 0 %, 0,5 % a 1,5 % kolagenního hydrolyzátu zaneseny do sloupcových grafů zvlášť pro levou stranu (viz Obrázek 6) a pravou stranu měřené oblasti (viz Obrázek 7).

Kromě třech případů byly všechny zjištěné hodnoty hydratace vyšší než 45 k. j., což prokazuje dostatečnou hydrataci pokožky. Nižší hodnoty pohybující se těsně pod hranicí 45 k. j. byly naměřeny v 8. týdnu na levé straně a ve 4. týdnu na pravé straně u skupiny používající placebo a pak v 8. týdnu na pravé straně u skupiny s 0,5 % kolagenu. Celkově byly po 8 týdnech aplikace gelových formulací u všech skupin zjištěny nižší hodnoty hydratace oproti původnímu stavu. U skupiny používající placebo byl pokles hydratace na levé i pravé straně –15 %, v případě používání gelu s obsahem 0,5 % KH bylo zaznamenáno snížení –14 % na levé a –20 % na pravé straně a pokles hydratace u skupiny s 1,5% koncentrací KH byl po 8 týdnech –10 % pro levou a –12 % pro pravou stranu.

Obecně je známo, že přijímání vody zvlhčujícími přísadami v *stratum corneum* zvyšuje stupeň hydratace. Nízkomolekulární humektanty, jako je močovina, kyselina mléčná, pyrrolidonkarboxylová kyselina a soli jsou snadněji absorbovány oproti látkám s vyšší molekulovou hmotností, mezi které patří z bílkovin například kolagen a z dalších látek polymery odvozené od celulózy nebo mukopolysacharidy. Není přesvědčivě dokázáno, že topické lokální aplikace takových látek zvyšují obsah vody ve *stratum corneum*, ale přesto tyto látky nachází uplatnění coby hydratanty. Kolagen díky filmotvorným vlastnostem je vhodný pro kosmetické aplikace [84, s. 64]. K vytvoření filmu po aplikaci studovaných gelových matic s KH mohl přispět i filmotvorný karbomer [85]; obojí mohlo zapříčinit

snížení hydratace pokožky v periorbitální oblasti. Je nutné však říci, že stav kůže odpovídal hodnotám popisujícím normální hydratační úroveň v průběhu celého experimentu.

Podobné výsledky jsou prezentovány v práci [74], kde byl zkoumán účinek formulací s přídavkem 0,5 % a 1,5 % rybího hydrolyzátu na vlastnosti kůže periorbitální oblasti. Po 64 dnech aplikace daných formulací byl rovněž zaznamenán pokles hydratace pokožky. Celkově bylo dosaženo snížení hydratace na levé straně o -10 % a na pravé straně o -6 %.

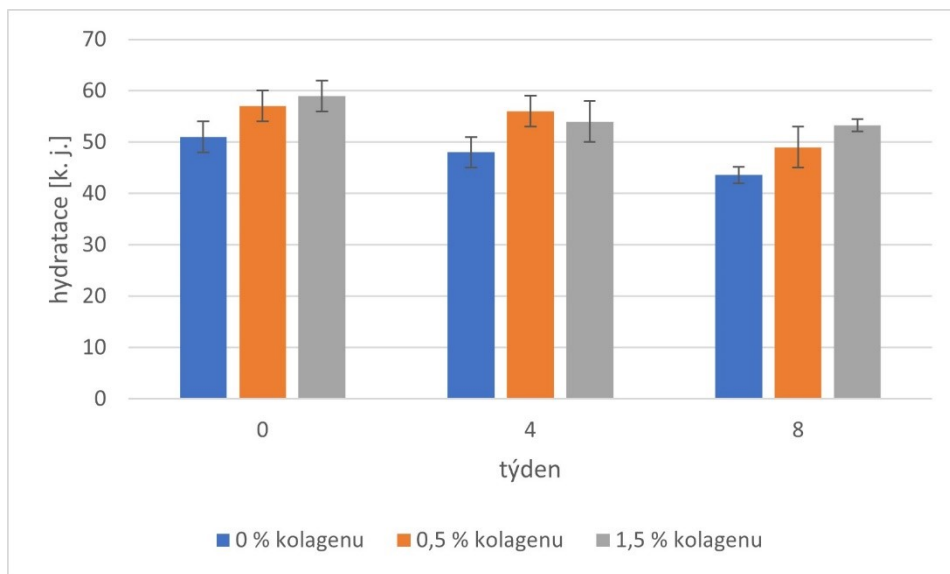
Jiná práce [75] se zabývala vlivem 0,5% a 2% přídavku kolagenního hydrolyzátu do gelového a krémového základu na parametry kůže volárního předloktí. Po 1, 2, 3 a 4 hodinách od ošetření pokožky 0,5% roztokem dodecylsulfátu sodného a následné aplikaci příslušné formulace s obsahem kolagenu byly pozorovány nižší hodnoty hydratace pokožky oproti výchozímu stavu. U formulací s přídavkem kolagenu bylo navíc dosaženo nižších hodnot hydratace, než jaké byly naměřeny u samotných kosmetických základů. Zvýšení hydratace a její návrat k původním hodnotám nastaly při měření po 24 a 48 hodinách.

V *in vivo* studii [58] byl prokázán vliv přípravků s obsahem mořského kolagenu 0,5 %, 0,25 % a 0,1 % na hydrataci volární strany předloktí. Významnější zvýšení hydratace bylo pozorováno u koncentrace kolagenu 0,5 % po 2 hodinách a u koncentrace kolagenu 0,1 % po 4 hodinách od nanesení. Nejlepších výsledků bylo dosaženo za použití 0,25% koncentrace kolagenu, kdy nárůst hydratace pokožky byl zjištěn při měření po 2 hodinách a vyšší hydratace přetrvávala až do měření po 4 a po 8 hodinách.

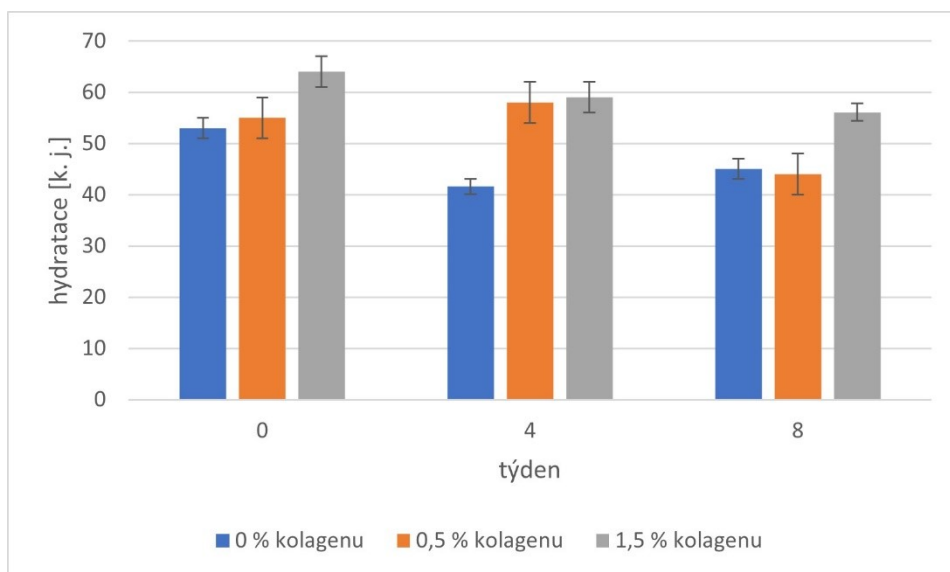
Další studie [59] hodnotila vliv různých formulací s přídavkem žraločího kolagenu (0,125 %, 0,25 %, 0,3125 %, 0,5 %, 0,625 %, 1 %, 1,25 %, 2 %, 2,5 %, 4 %, a 5 %) na parametry pokožky volární strany předloktí. Vyšší koncentrace kolagenu výrazněji podpořily po 10 a 20 minutách od nanesení hydrataci kůže než koncentrace nižší.

Sérum s obsahem kyseliny hyaluronové použité ve studii [37] mělo za následek 31% zvýšení hydratace v oblasti obličeje ihned po nanesení, po 2 týdnech používání bylo zlepšení hydratace 35 %, po 4 týdnech 46 % a hydratace dále rostla až do posledního hodnocení v 6. týdnu, kdy zvýšení činilo 64 %.

Nárůst hydratace byl taktéž pozorován při užití formulace obsahující 1 % kyseliny hyaluronové, 5 % glycerinu a kmenové buňky pupečníku asijského. V porovnání s výchozím stavem a neošetřeným místem bylo vyhodnoceno zvýšení hydratace o 59 % po 1 hodině, 48 % po 8 hodinách a 29 % po 24 hodinách od aplikace formulace [86].



Obrázek 6 Hydratace periorbitální oblasti ve sledovaném období – levá strana



Obrázek 7 Hydratace periorbitální oblasti ve sledovaném období – pravá strana

## 5.2 Účinek kolagenních formulací na TEWL

Měření transepidermální ztráty vody slouží ke studiu ochranné kožní bariéry a jejich funkcí. *Stratum corneum* představuje hlavní složku regulující pasivní difuzi vody z hlubších vrstev *epidermis*, které jsou typicky velmi dobře hydratované, směrem k málo hydratovanému povrchu kůže, přičemž rychlost difuze je určena difuzním tokem [87]. Zmíněné filmotvorné

vlastnosti KH a gelové matrice na bázi karbomeru brání spolu se zdravou hydratovanou rohovou vrstvou odpařování epidermální vody. Tvorba povrchového filmu tedy napomáhá snížení výsledných hodnot TEWL [60]. Pomocí tewametru s otevřenou komůrkou vybavenou senzory se zjišťuje gradient vodní páry nad povrchem kůže. To umožňuje vyhodnotit účinnost formulací, jejichž účinek závisí na okluzi. Metoda měření je založena na Fickově difuzním zákoně, který definuje difuzi vody z povrchu těla vztahem (3), [87].

$$J = K_m \cdot D \cdot \frac{dc}{dx} \quad (3)$$

Kde:

J – tok vody,

$K_m$  – rozdělovací koeficient,

D – difuzní koeficient,

c – koncentrace vody,

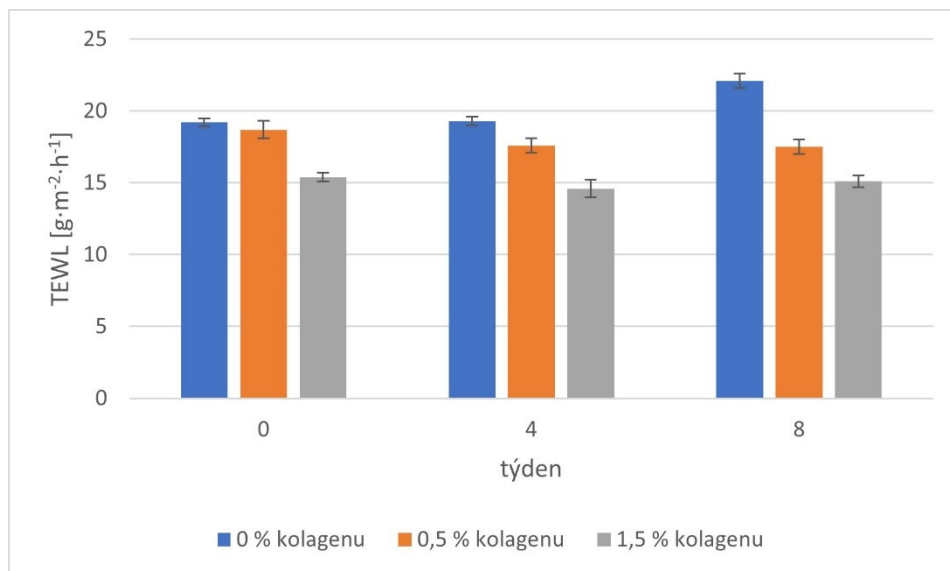
x – vzdálenost ve *stratum corneum*.

Naměřené hodnoty TEWL jsou pro jednotlivé formulace s obsahem 0 %, 0,5 % a 1,5 % kolagenního hydrolyzátu znázorněny v podobě průměrných hodnot a směrodatných odchylek na Obrázku 8 pro levou stranu a Obrázku 9 pro pravou stranu obličeje.

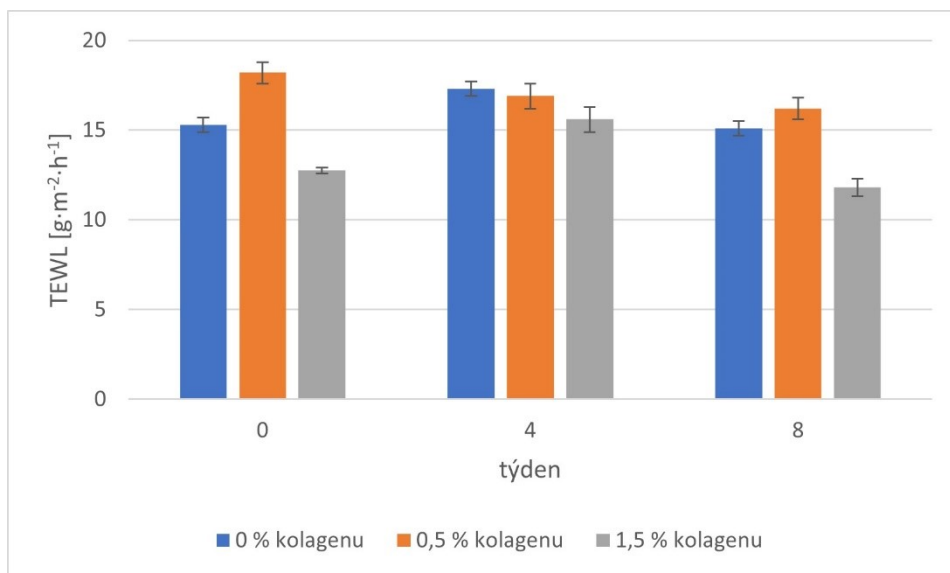
Průměr naměřených hodnot TEWL u všech skupin při prvním i posledním měření byl v intervalu 15–25 g·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>, který odpovídá normálnímu stavu pokožky, výjimkou byla pravá strana u skupiny s 1,5% koncentrací KH, kde již počáteční hodnoty TEWL byly nižší. Kromě placebo u levé strany, kde byl při posledním měření zaznamenán nárůst TEWL o 15 %, vykazovaly všechny skupiny pokles hodnot TEWL při srovnání posledního a prvního měření. Snížení TEWL na pravé straně při použití placebo bylo –1 %, pokles u skupiny používající 0,5% koncentraci kolagenu činil –6 % pro levou stranu a –11 % pro pravou stranu a v případě 1,5% koncentrace KH byl pokles –2 % na levé straně a –7 % na pravé straně, průměrné hodnoty TEWL byly však u této skupiny při prvním i posledním měření nižší než u předchozí skupiny.

Požadovaného snížení TEWL bylo rovněž dosaženo v pracech [74] a [75], kde výraznější snížení TEWL většinou zapříčiňovaly formulace s obsahem 0,5 % kolagenního hydrolyzátu.

Již zmíněná studie [86] využívající kyselinu hyaluronovou, glycerin a kmenové buňky pupečníku asijského uvádí snížení TEWL  $-52\%$  po 1 hodině,  $-32\%$  po 8 hodinách a  $-48\%$  po 24 hodinách od nanesení přípravku.



Obrázek 8 TEWL periorbitální oblasti ve sledovaném období – levá strana



Obrázek 9 TEWL periorbitální oblasti ve sledovaném období – pravá strana

### 5.3 Účinek kolagenních formulací na pH

Kyselost kožního pláště sehrává důležitou roli jak pro zdravé fungování kožní bariéry, tak i pro vytvoření antimikrobiální ochrany. Hodnoty pH zaznamenané v semihydrofobním

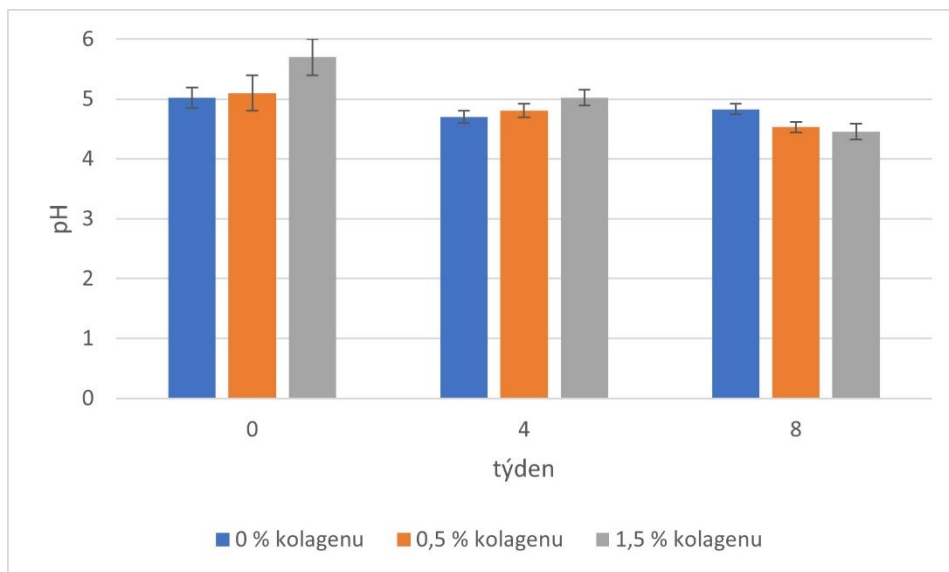
prostředí, kterým je i *stratum corneum*, jsou hodnotami relativními a je třeba obezřetně přistupovat k jejich interpretaci. I malé rozdíly v pH odráží významné změny v molekulární úrovni. Vodíkové ionty nejsou v čistém roztoku povrchu kůže a jejich činnost je ovlivněna koncentrací dalších složek prostředí, ve kterém se nacházejí. Na velikost pH má vliv celá řada endogenních faktorů, jako je např. vlhkost kůže, pot, kožní maz, anatomické místo, genetická predispozice nebo věk. Z exogenních faktorů je třeba zmínit používání detergentů, aplikaci topických přípravků, okluziv aj. [88].

Průměrné hodnoty pH včetně směrodatných odchylek pro jednotlivé formulace s 0 %, 0,5 % a 1,5 % kolagenního hydrolyzátu jsou pro levou stranu uvedeny na Obrázku 10 a pro pravou stranu na Obrázku 11.

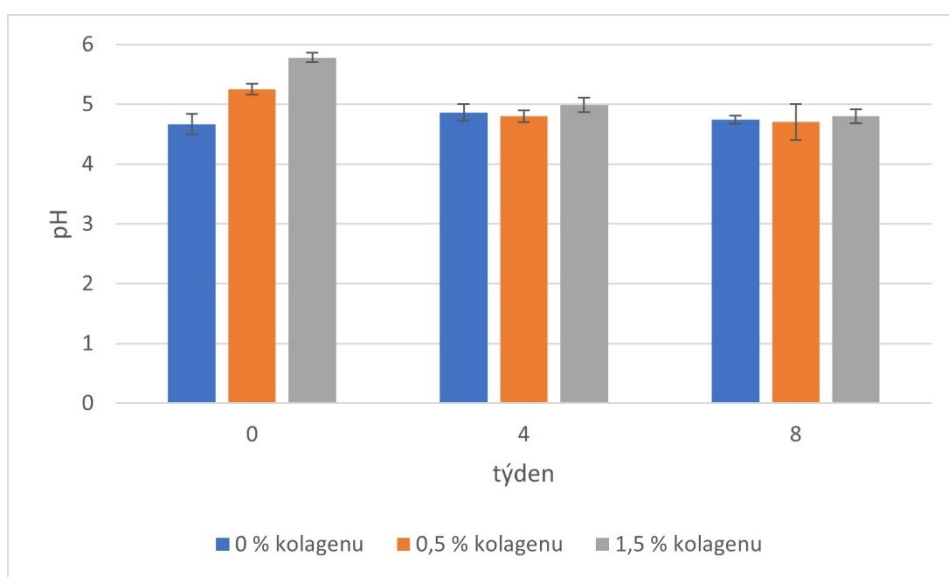
Ve většině případů se pH pokožky po dobu trvání měření nacházelo v rozmezí odpovídajícím fyziologickému pH, narušení přirozeného pH působením kosmetických přípravků je nežádoucí. Výchozí hodnoty pH byly u všech skupin po 8 týdnech sjednoceny na hodnotách pohybujících se více u spodní hranice intervalu fyziologického pH. V případě skupiny s placebem se jednalo na levé straně o pokles pH  $-4$  % a na pravé straně o nárůst  $1$  %, u koncentrace 0,5 % KH došlo na levé straně ke snížení odpovídající  $-11$  % a na pravé straně  $-10$  % a skupina s koncentrací kolagenu 1,5 % dosáhla na levé straně snížení  $-22$  % a na pravé straně  $-17$  %.

Také v práci [74] bylo pozorováno snížení pH, jehož výsledný pokles byl  $-20$  % pro levou stranu a  $-18$  % pro pravou stranu periorbitální oblasti, a hodnoty při posledním měření se taktéž pohybovaly v kyselější oblasti výše zmíněného rozmezí.

Mírný pokles pH kůže je uvedený ve studii [63] využívající extrakt z mořské houby. K vyrovnání hodnot pH v oblasti normálních hodnot došlo i za použití přípravků s obsahem medu, včelího vosku, mateří kašičky a propolisu [14].



Obrázek 10 Průměrné hodnoty pH – levá strana



Obrázek 11 Průměrné hodnoty pH – pravá strana

#### 5.4 Účinek kolagenních formulací na množství vrásek

Procentuální změna množství vrásek při aplikacích všech použitých formulací znázorňuje Obrázek 12.

Za použití placebo bylo dosaženo nejmenší redukce vrásek na levé straně měřené oblasti, kde pokles činil  $-0,8\%$ , na pravé straně se jednalo o snížení  $-8\%$ . Pomocí formulace s obsahem KH  $0,5\%$  byl zaznamenán pokles množství vrásek  $-6\%$  pro levou a  $-10\%$  pro

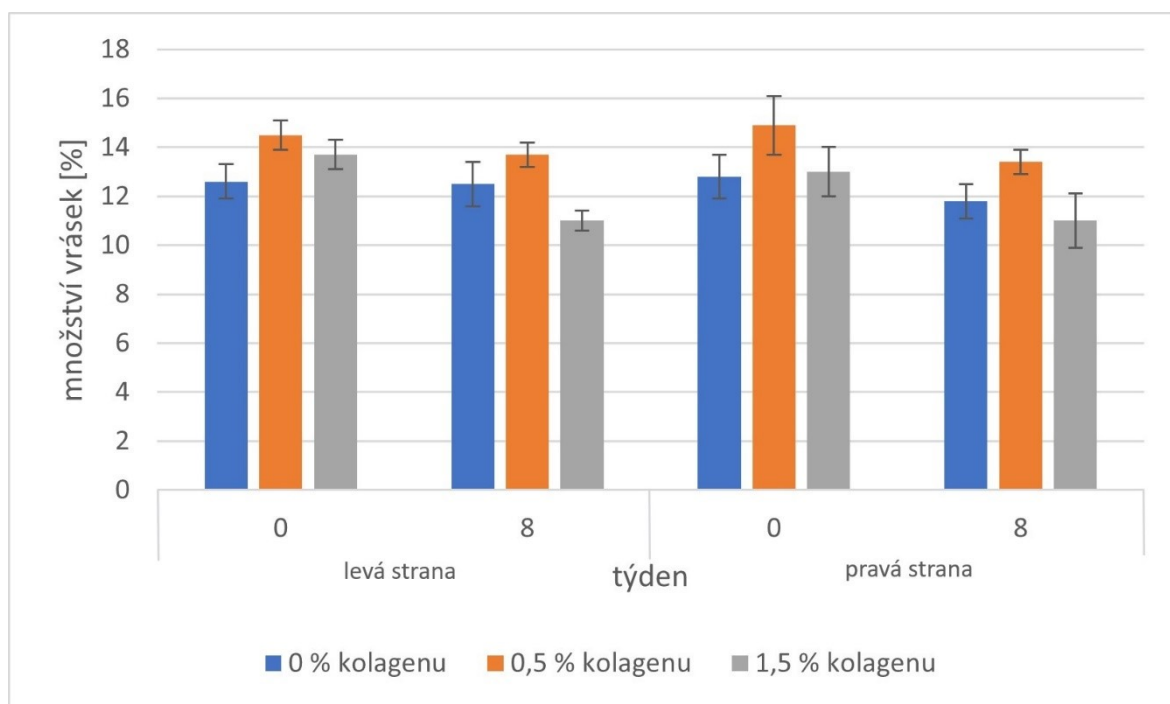
pravou stranu. Nejlepší výsledky vykazovala formulace s 1,5 % KH, při jejímž použití byla redukce na levé straně –20 % a na pravé straně –15 %.

Srovnatelné výsledky jsou prezentovány v práci [74], kde celkové snížení množství vrásek bylo –7 % na levé a –12 % na pravé straně. Studie se ale účastnily mladší dobrovolnice ve věku  $22 \pm 2$  roky.

Studie [59] uvádí, že po 10 a 20 minutách vyhlazují z testovaných formulací s obsahem kolagenu v rozsahu 0,125–5 % účinněji vrásky ty s vyšší koncentrací kolagenu, zároveň zlepšují celkovou texturu kůže.

Perorální užívání KH vedlo ve studii [62] po 12 týdnech ke snížení množství vrásek na levé straně o –17 % a na pravé straně tváře o –35 %, v porovnání s placebem byla redukce vrásek pro pravou stranu –24 %.

Další porovnání je možné provést se studií, kde bylo testováno sérum s kyselinou hyaluronovou. Zaznamenané zlepšení množství obličejových vrásek činilo po 6 týdnech aplikace séra 14 % [37].

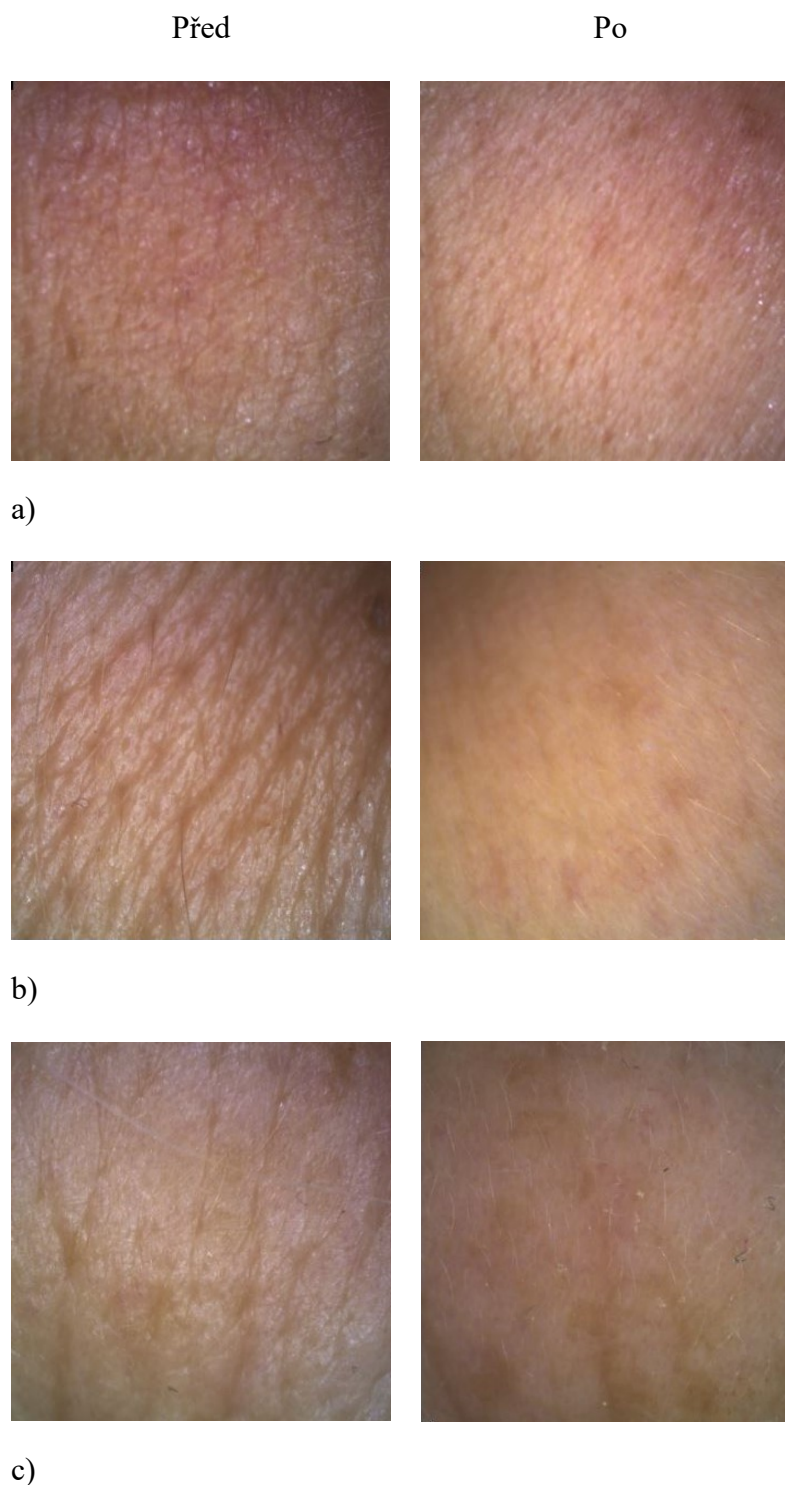


Obrázek 12 Průměrné množství vrásek

Obrázek 13 ukazuje změnu reliéfu pokožky periorbitální oblasti před aplikací gelu s KH a následně po 8 týdnech jeho používání u 3 dobrovolnic, z nichž každé byla přidělena jiná



formulace. Ze snímků je patrné, že k výraznějšímu vyhlazení pokožky došlo u dobrovolnic, které používaly gelové formulace s přísadkou KH.



Obrázek 13 Snímky vrásek před a po 8 týdnech aplikace formulace a) placebo, b) s 0,5 % kolagenu, c) s 1,5 % kolagenu

## 5.5 Účinek kolagenních formulací na kožní reliéf

K tomuto hodnocení byl použit přístroj Skin Visiometr<sup>®</sup> SV 700. Princip jeho měření spočívá v průchodu světla replikou, jež je do přístroje vložena. Replika světlo absorbuje v závislosti na tloušťce silikonové vrstvy, prošlé světlo je snímáno CDD kamerou. Množství absorbovaného světla je vyhodnoceno pomocí Lambert-Beerova zákona definovaného vztahem (4). Programové vybavení pomocí aplikace tohoto zákona vypočítá tloušťku příslušné oblasti repliky, která představuje úroveň šedi, resp. intenzitu světla v pixelech [89, s. 5].

$$\Phi_{\text{ex}} = \Phi_{\text{in}} \cdot e^{-kd} \quad (4)$$

Kde:

$\Phi_{\text{ex}}$  – intenzita světla před vstupem do média,

$\Phi_{\text{in}}$  – intenzita světla po výstupu z média,

$k$  – absorpční konstanta,

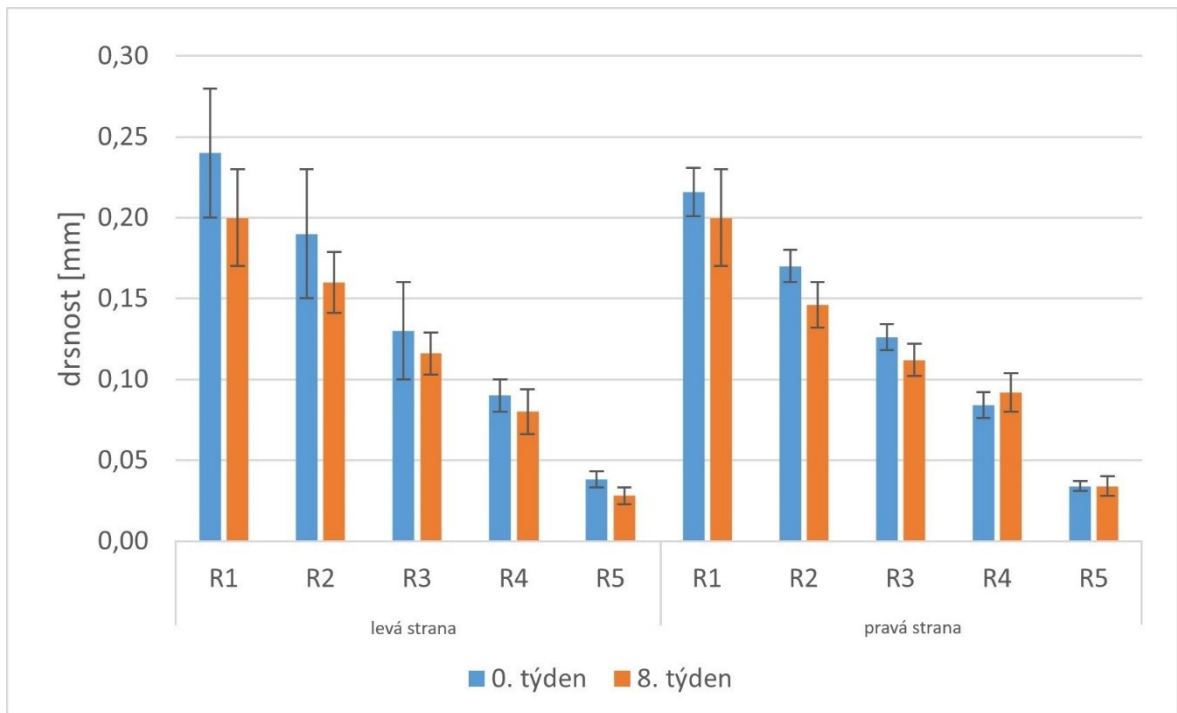
$d$  – délka optické dráhy.

Změna kožního mikroreliefu po osmítýdenním používání gelových formulací byla zjišťována na základě parametrů drsnosti R1–R5, jejichž generace byla provedena Skin Visiometrem SV 700. Parametr R1 udává vzdálenost mezi nejvyšším a nejnižším místem snímané oblasti, R2 značí maximální drsnost z různých hodnot segmentů drsnosti, R3 představuje průměrný parametr drsnosti počítaný jako aritmetický průměr drsnosti z pěti nejvyšších a pěti nejnižších segmentů. Parametr R4 vyjadřuje maximální výšku profilu vztaženou k délce vyhodnocované oblasti, což vymezuje vzdálenost maximálního profilu od skutečného. Parametr R5 prezentuje rozdíl výšek skutečného a průměrného profilu [89, s. 22]. Tyto parametry jsou ovlivněny plochou, ze které se výpočet provádí. Je možné zvolit horizontální, vertikální nebo kruhové uspořádání. V této práci bylo použito vyhodnocení pomocí kruhové oblasti, která zajišťuje určitou kompenzaci vlivu směru vrásek [89, s. 21]. Dalším faktorem, který má vliv na výsledné parametry, je průměr kruhu, ve kterém jsou parametry drsnosti hodnoceny [89, s. 22].

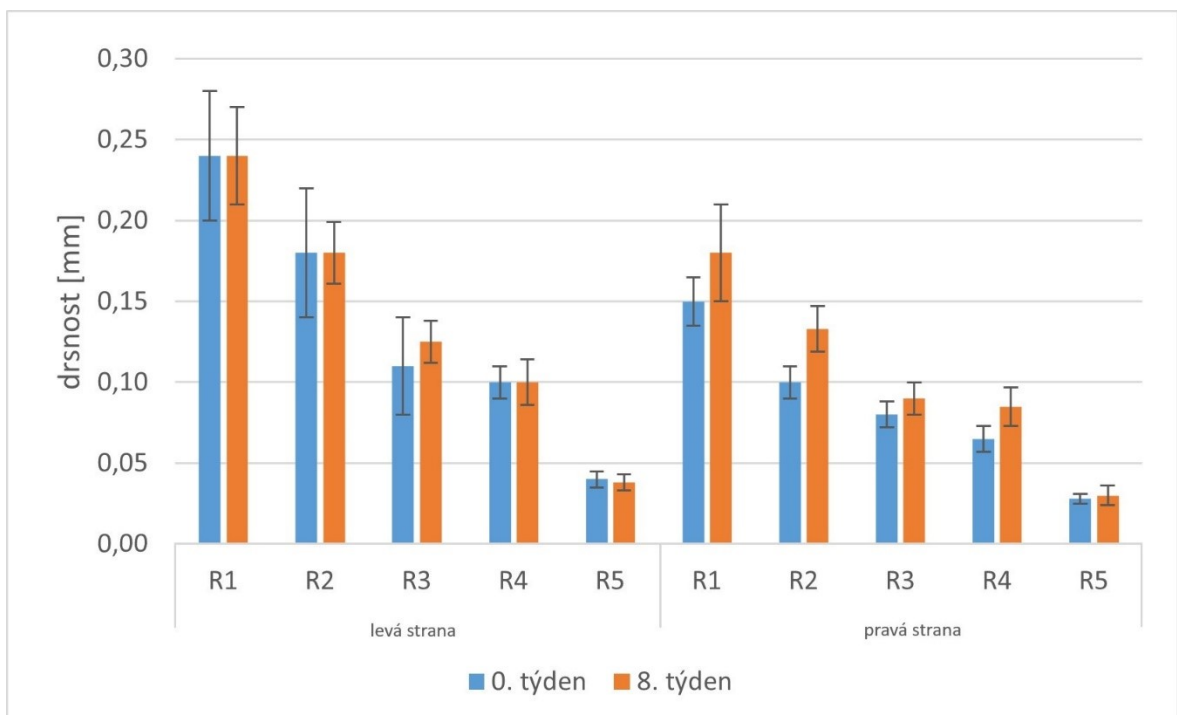
Pro parametry drsnosti byly podobně jako pro ostatní zjišťované vlastnosti kůže vyhotoveny sloupcové grafy, z nichž Obrázek 14 zachycuje průměrné hodnoty a směrodatné odchylky ve skupině používající 0% koncentraci kolagenu, Obrázek 15 je sestrojen pro 0,5%

koncentraci kolagenu a Obrázek 16 znázorňuje změny parametrů drsnosti před zahájením používání formulace s 1,5 % kolagenu a po 8 týdnech aplikace.

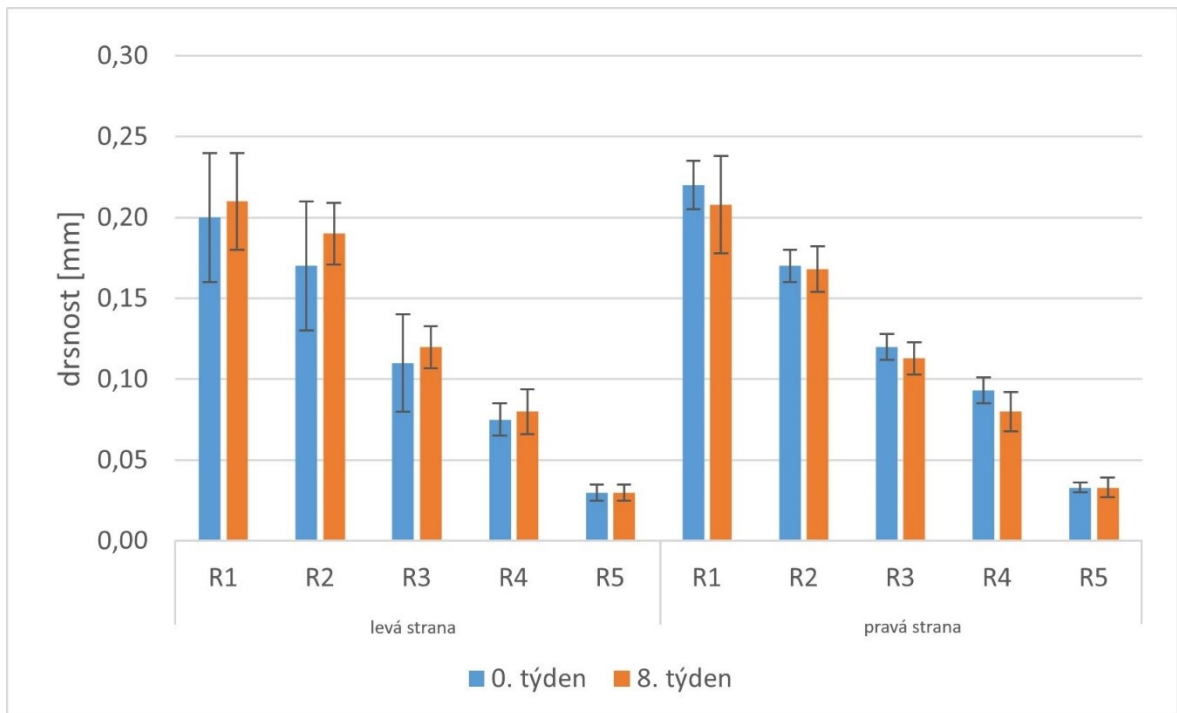
U skupiny používající placebo došlo mezi prvním a posledním měřením k poklesu parametru R1 o -17 % na levé a -7 % na pravé straně, v případě používání gelu s obsahem 0,5 % kolagenu nedošlo na levé straně ke změně a na pravé straně byl zaznamenán nárůst 20 %. Ve skupině s koncentrací kolagenu 1,5 % byl na levé straně zjištěn nárůst 5 % a na pravé straně pokles -5 %. Parametr R2 ve skupině používající placebo klesl na levé straně o -15 % a na pravé o -14 %, u skupiny s 0,5% koncentrací kolagenu se na levé straně nezměnil a na pravé vzrostl o 33 % a k nárůstu došlo také pro levou stranu skupiny používající 1,5% koncentraci kolagenu, kdy tento nárůst byl 12 %, pro pravou stranu však vyšel pokles hodnoty tohoto parametru -1 %. Skupina s placebem měla parametr R3 na levé i pravé straně snížený o -11 %. Nárůst hodnoty parametru R3 o 14 % byl zjištěn na levé straně u skupiny s 0,5% koncentrací kolagenu a pro pravou stranu bylo zvýšení 13 %, ve skupině s 1,5% koncentrací KH byl nárůst 9 % na levé straně a pokles -6 % na pravé straně. U placebo bylo zaznamenané snížení parametru R4 na levé straně o -11 % a zvýšení na pravé straně o 10 %. Ve skupině s 0,5% koncentrací kolagenu nebyla na levé straně zjištěna změna a pro pravou stranu byl nárůst hodnoty parametru R4 31 %, na levé straně u skupiny používající 1,5% koncentraci kolagenu bylo zvýšení 9 % a na pravé straně došlo k poklesu o -14 %. Parametr R5 klesl v případě levé strany placebo o -26 %, na pravé straně k jeho změně nedošlo, u další skupiny testující 0,5% koncentraci kolagenu činil pokles pro levou stranu -5 % a na pravé straně byl zjištěn nárůst 7 %. U skupiny používající koncentraci kolagenu 1,5 % nebyl zaznamenán rozdíl hodnoty parametru R5 na levé ani na pravé straně. Žádoucí snížení hodnot parametrů drsnosti tak kromě placebo bylo pozorováno jen u pravé strany při použití koncentrace kolagenu 1,5 %. Kvůli nejednoznačnosti dat však není možné s jistotou stanovit vliv používání gelové formulace s obsahem kolagenu na zmiňované parametry. Důvodem tohoto problému může být nízký počet dobrovolnic a nedůsledné dodržování aplikace připravených formulací. Dalším problémem může být neodborné vyhotovení replik související s nedostatečnými zkušenostmi experimentátora, které se projeví přítomností vzduchových bublin nebo nestejnou tloušťkou repliky, které tak mohly zkreslit následné hodnoty popisných parametrů replik.



Obrázek 14 Průměrné hodnoty parametrů drsnosti pokožky ošetřené placebem

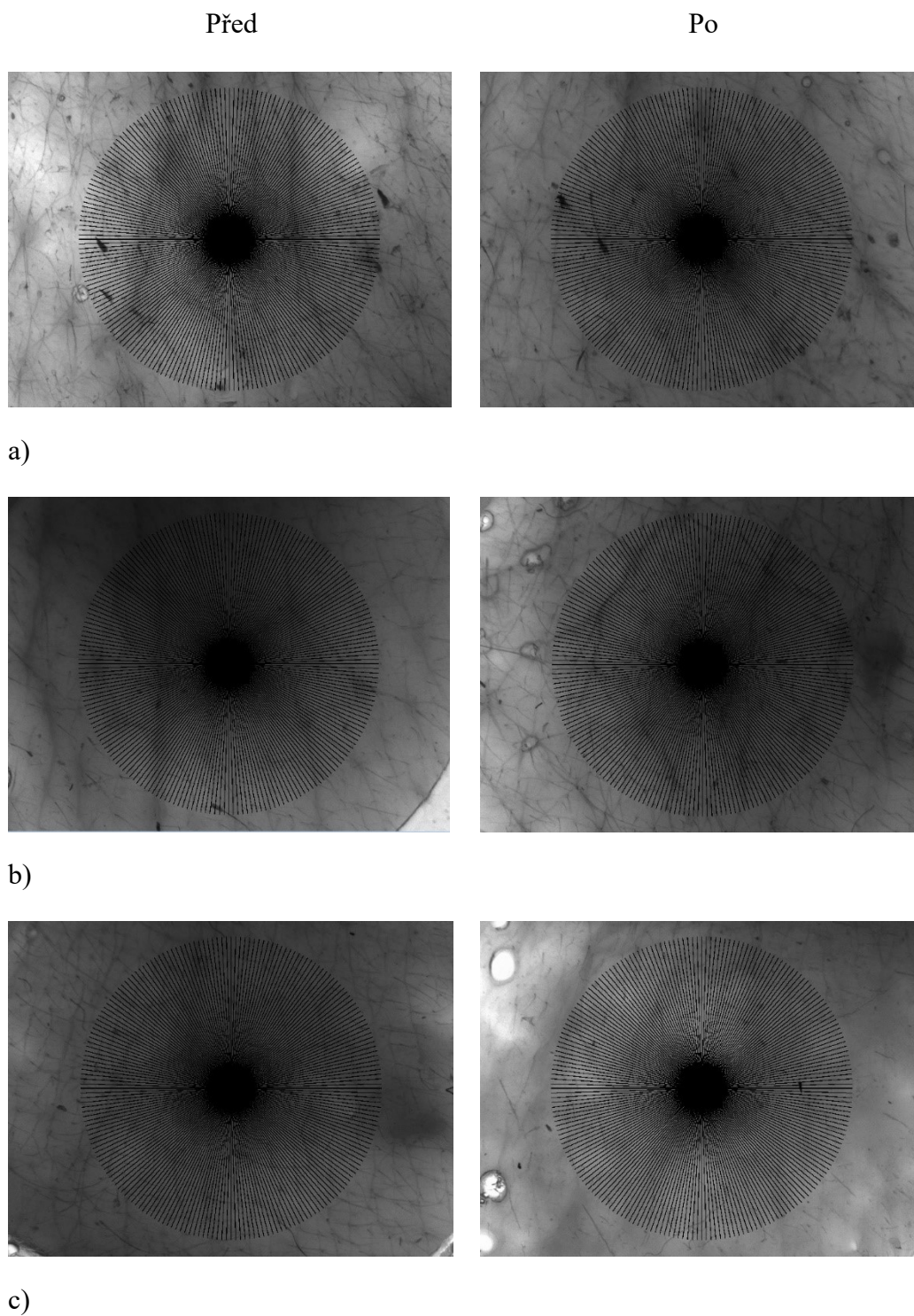


Obrázek 15 Průměrné hodnoty parametrů drsnosti pokožky ošetřené gelovou formulací s 0,5 % kolagenu



Obrázek 16 Průměrné hodnoty parametrů drsnosti pokožky ošetřené gelovou formulací s 1,5 % kolagenu

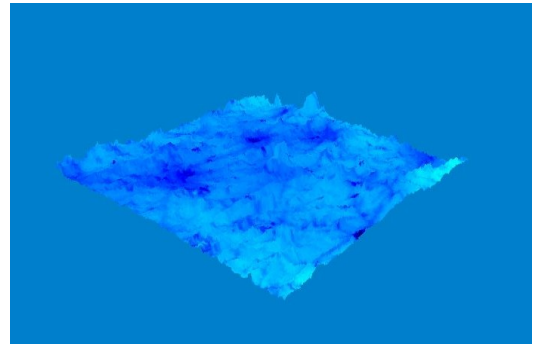
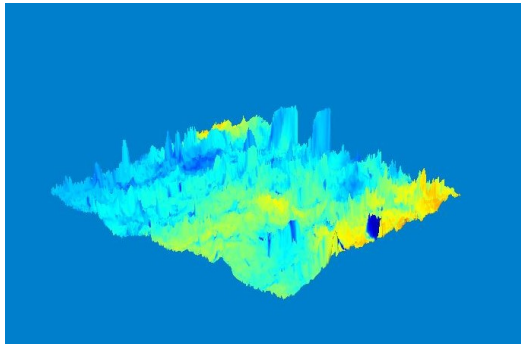
Vyhotoveny byly obrazy replik odpovídající povrchu kůže snímané oblasti včetně kruhu, podle kterého byly vyhodnocovány parametry drsnosti (viz Obrázek 17). Modely pokožky 3D prezentuje Obrázek 18.



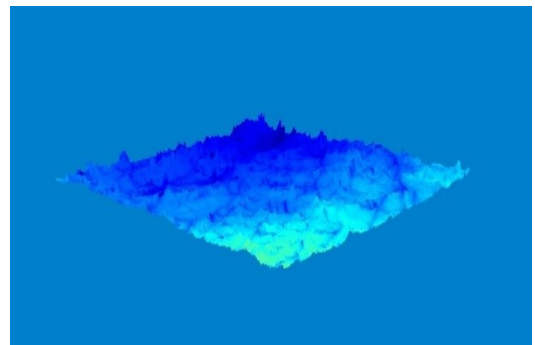
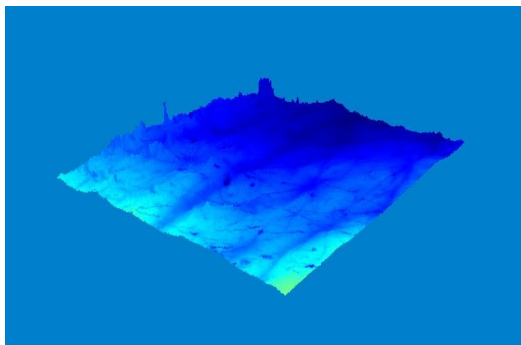
Obrázek 17 Snímky reliéfu pokožky před a po 8 týdnech aplikace formulace  
a) placebo, b) s 0,5 % kolagenu, c) s 1,5 % kolagenu

Před

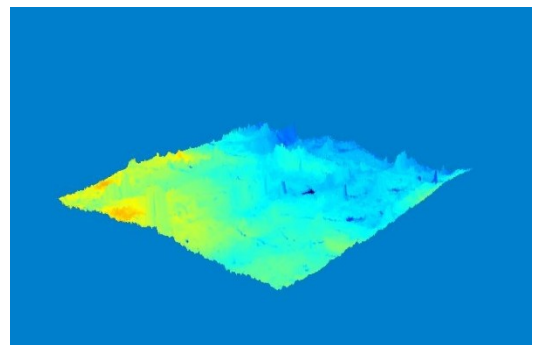
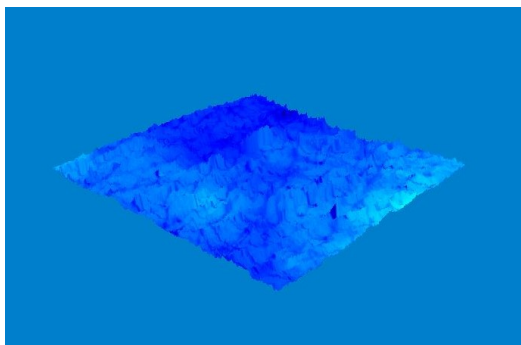
Po



a)



b)

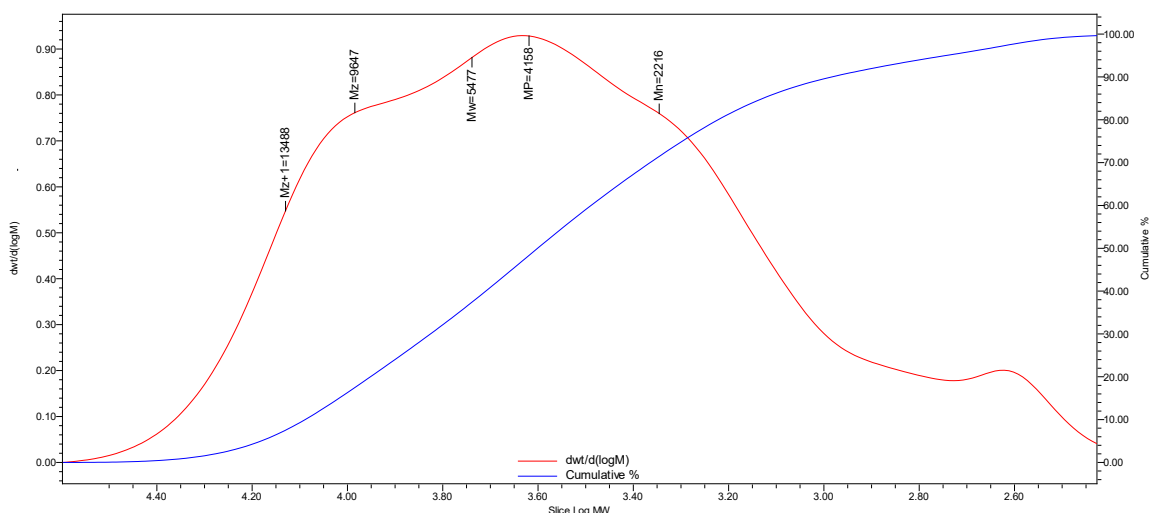


c)

Obrázek 18 Snímky 3D reliéfu kůže před a po 8 týdnech aplikace příslušné formulace a) placebo, b) s 0,5 % kolagenu, c) s 1,5 % kolagenu

## 5.6 Molekulová hmotnost a její vliv na biofyzikální změny kůže

Stanovením molekulových hmotností KH pomocí GPC-RID byla zjištěna hmotnostně průměrná molekulová hmotnost 5,5 kDa a početně průměrná molekulová hmotnost 2,2 kDa. Distribuční křivku molekulových hmotností prezentuje Obrázek 19.



Obrázek 19 Distribuce molekulových hmotností vzorku KH

Molekulová hmotnost nativního kolagenu se pohybuje od 285 do 300 kDa, u hydrolyzovaného kolagenu pak v rozsahu 3–6 kDa [90]. Proteiny vysoké molekulové hmotnosti, jako je kolagen, nemohou pronikat přes *stratum corneum*, zadržují vodu a snižují její následnou ztrátu z povrchu pokožky vytvořením filmu, který zabraňuje jejímu odpařování, a dále minimalizují jemné vrásky. Kromě toho se předpokládá, že některé podporují buněčnou obnovu a syntézu kolagenu [91]. Vznik filmu byl diskutován v souvislosti s poklesem TEWL po aplikaci připravených formulací v kapitole 5.2. Nízkomolekulární podíly pronikající do hlubších vrstev *epidermis* by vysvětlovaly ne vždy průkazné změny v mikroreliefu kůže diskutované v kapitole 5.5, které zmiňuje autor studie [92] zaměřené na účinnost gelů s kyselinou hyaluronovou. V korejské studii [93] výsledky naznačily, že peptidy pocházející z kolagenů izolovaných z *Asterias amurensis* o velikosti přibližně 20 kDa mají vynikající účinky proti vráskám. Fyziologicky je kožní kolagen udržován degradací starého kolagenu a resyntézou nového kolagenu v procesu zvaném remodelace kůže. Cyklus remodelace může být u stárnoucí pokožky zpomalen, což vede k vráskám, ochabování a snížené elasticitě. Remodelace kolagenu je tedy slibným nástrojem proti stárnutí.



## ZÁVĚR

V teoretické části bakalářské práce byla zpracována terminologie spojená s přípravky, které jsou určeny k aplikaci na kůži. Stěžejní část byla věnována aktivním látkám živočišného původu, jež byly rozděleny podle zdroje jejich získávání, charakteristiky jejich vlastností a vlivů na stav pokožky.

Náplní praktické části byla příprava gelových formulací s obsahem 0 %, 0,5 % a 1,5 % KH, u kterého byla stanovena molekulová hmotnost. Kosmetická účinnost *in vivo* pomocí neinvazivních bioinženýrských metod byla sledována v průběhu osmitýdenní aplikace připravených formulací. Monitorovanými biofyzikálními parametry byla hydratace, TEWL a pH. Změna v množství vrásek a reliéfu pokožky byla snímána prostřednictvím replik v periorbitální oblasti.

Vyhodnocením hydratace bylo zjištěno její snížení v případě všech použitých formulací, nejmenší pokles byl pozorován na pokožce ošetřené koncentrací 1,5 % KH. Výsledky měření TEWL byly příznivější, pozorováno bylo větší snížení při používání formulací s přídavkem kolagenu oproti placebo. Zaznamenáno bylo také snižování hodnot pH pokožky u dobrovolnic, které si v rámci studie nanášely na určenou oblast gelové formulace s obsahem KH. Výsledné pH bylo u všech koncentrací vyrovnáno v rozmezí neutrálních hodnot. Podpořen byl dále úbytek množství vrásek s nejvýraznějším poklesem pro skupinu aplikující si gel s obsahem 1,5 % KH zobrazováním snímané oblasti videokamerou, což by mohlo souviset s nízkomolekulárním podílem KH. Naproti tomu jako nejednoznačné se však ukázaly výsledky parametrů drsnosti a 3D modelů reliéfu pokožky získané při vyhodnocování zhotovených kožních replik. Příčinou může být nízký počet dobrovolnic v jednotlivých skupinách, nedůsledná či nepravidelná aplikace KH nebo nekvalitní příprava hmoty replik, které se projeví přítomností vzduchových bublin negativně na vyhodnocovaných parametrech.

Pozitivní účinky hydrolyzovaného rybího kolagenu na pleť tak byly potvrzeny snížením TEWL v souvislosti se schopností tvořit ochranný film na pokožce, poklesem pH do mírně kyselých hodnot a redukcí množství vrásek. Nebylo potvrzeno očekávané zvýšení hydratace kožního pláště.

Získané poznatky z citovaných studií i provedeného experimentu vlivu topických formulací s KH na pokožku neposkytují dostatek spolehlivých důkazů ve vztahu k rozdílům v molekulové hmotnosti KH. Jako námět pro další experimentální práci se ukazuje potřeba

studia dalších zooceutik na bázi kolagenu pro zpomalení stárnutí pokožky srovnáváním jejich biofyzikální účinnosti, aby se potvrdily jejich potenciální pozitivní účinky.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BAREL, André O., Marc PAYE a Howard I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology* [online]. CRC Press, 2010 [cit. 2022-08-29]. ISBN 9780429149726. Dostupné z: doi:10.1201/b15273
- [2] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. In: *Úřední věstník Evropské unie*. Brusel, 2009. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R1223&from=ET>
- [3] HORÁK, Petr. Volně prodejné přípravky v dermatologii. Kosmetika, nebo léky? *Dermatologie pro praxi* [online]. 2011, **5**(3), 164-166 [cit. 2022-08-26]. ISSN 1803-5337. Dostupné z: <https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2011/03/12.pdf>
- [4] FARRIS, Patricia K. *Cosmeceuticals and Cosmetic Practice* [online]. Chichester, West Sussex, UK: Wiley, 2013 [cit. 2022-08-29]. ISBN 9781118384831. Dostupné z: doi:10.1002/9781118384824
- [5] ADHIKARI, Dipan, Suman MUKHERJEE a Tuhin GHOSH. Zooceuticals – Promising Bio-molecules for Synthetic Simulation. *Manan* [online]. 2014, **1**, 11-18 [cit. 2022-11-19]. Dostupné z: [https://www.academia.edu/13857212/Zooceuticals\\_Promising\\_Bio-molecules\\_for\\_Synthetic\\_Simulation](https://www.academia.edu/13857212/Zooceuticals_Promising_Bio-molecules_for_Synthetic_Simulation)
- [6] ADHIKARI, Dipan a Subhabrata RAY. Marine zooceuticals – Synergy of zoology & pharmaceuticals. *Pharmawave* [online]. 2016, **9**, 1-14 [cit. 2022-11-19]. Dostupné z: <http://bcrcppharmawave.net/PDF-9/4.pdf>
- [7] CRISTIANO, Luigi a Manuela GUAGNI. Zooceuticals and Cosmetic Ingredients Derived from Animals. *Cosmetics* [online]. 2022, **9**(1) 1-14 [cit. 2022-08-26]. ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics9010013
- [8] ABEDIN, Nermin, Raisa BASHAR, Abdun Naqib JIMMY a Nazmul Ahsan KHAN. Unraveling Consumer Decisions towards Animal Ingredients in Personal-care Items: The Case of Dhaka City Dwellers. *American Journal of Marketing Research* [online]. 2020, **6**(2), 19-27 [cit. 2022-12-03]. ISSN: 2381-7518. Dostupné z: <http://www.aiscience.org/journal/paperInfo/ajmr?paperId=4750>

- [9] TRIUNFO, Micaela, Elena TAFI, Anna GUARNIERI, Carmen SCIEUZO, Thomas HAHN a kolektiv. Insect Chitin-Based Nanomaterials for Innovative Cosmetics and Cosmeceuticals. *Cosmetics* [online]. 2021, **8**(2), 1-20 [cit. 2022-08-26]. ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics8020040
- [10] KUREK-GÓRECKA, Anna, Michał GÓRECKI, Anna RZEPECKA-STOJKO, Radosław BALWIERZ a Jerzy STOJKO. Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules* [online]. 2020, **25**(3), 1-17 [cit. 2022-08-29]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25030556
- [11] DA SILVA, Priscila Missio, Cony GAUCHE, Luciano Valdemiro GONZAGA, Ana Carolina Oliviera COSTA a Roseane FETT. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry* [online]. 2016, **196**, 309-323 [cit. 2022-08-29]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.09.051
- [12] BURLANDO, Bruno a Laura CORNARA. Honey in dermatology and skin care: a review. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. 2013, **12**(4), 306-313 [cit. 2022-08-29]. ISSN 1473-2165. Dostupné z: doi:10.1111/jocd.12058
- [13] GOHARSHENASAN, Peiman, Shahideh AMINI, Ali ATRIA, Hamidreza ABTAHI a Ghasemali KHORASANI. Topical Application of Honey on Surgical Wounds: A Randomized Clinical Trial. *Complementary Medicine Research* [online]. 2016, **23**(1), 12-15 [cit. 2022-10-29]. ISSN 2504-2092. Dostupné z: doi:10.1159/000441994
- [14] PAVLAČKOVÁ, Jana, Pavlína EGNER, Roman SLAVÍK, Pavel MOKREJŠ a Robert GÁL. Hydration and Barrier Potential of Cosmetic Matrices with Bee Products. *Molecules* [online]. 2020, **25**(11), 1-13 [cit. 2022-10-29]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25112510
- [15] VALERO DA SILVA, Mônica, Nélio GOMES DE MOURA JR, Andrea BARRETTO MOTOYAMA a Vania Moraes FERREIRA. A review of the potential therapeutic and cosmetic use of propolis in topical formulations. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* [online]. 2020, **10**(1), 131-141 [cit. 2022-08-30]. ISSN 2231-3354. Dostupné z: doi:10.7324/JAPS.2020.101018
- [16] DA ROSA, Cristiano, Ian Lucas BUENO, Ana Clara MARTINS QUARESMA a Giovanna BARBARINI LONGATO. Healing Potential of Propolis in Skin Wounds Evidenced by Clinical Studies. *Pharmaceuticals* [online]. 2022, **15**(9), 1-8 [cit. 2022-11-17]. ISSN 1424-8247. Dostupné z: doi:10.3390/ph15091143

- [17] AN, Joo Young, Chaejin KIM, Na Rae PARK, Han Soo JUNG, Tae-sung KOO a kolektiv. Clinical Anti-aging Efficacy of Propolis Polymeric Nanoparticles Prepared by a Temperature-induced Phase Transition Method. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. 2022, **21**(9), 4060-4071 [cit. 2022-11-24]. ISSN 1473-2130. Dostupné z: doi:10.1111/jocd.14740
- [18] KIM, Seon Beom, Yang Hee JO, Qing LIU, Jong Hoon AHN, In Pyo HONG a kolektiv. Optimization of Extraction Condition of Bee Pollen Using Response Surface Methodology: Correlation between Anti-Melanogenesis, Antioxidant Activity, and Phenolic Content. *Molecules* [online]. 2015, **20**(11), 19764-19774 [cit. 2022-11-18]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules201119656
- [19] HAN, Sang Mi, Joo Hong YEO, Yoon Hee CHO a Sok Cheon PAK. Royal jelly reduces melanin synthesis through down-regulation of tyrosinase expression. *The American Journal of Chinese Medicine* [online]. 2011, **39**(6), 1253-1260 [cit. 2022-09-03]. ISSN 0192-415X. Dostupné z: doi:10.1142/S0192415X11009536
- [20] FRATINI, Filippo, Giovanni CILIA, Barbara TURCHI a Antonio FELICIOLI. Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* [online]. 2016, **9**(9), 839-843 [cit. 2022-09-06]. ISSN 1995-7645. Dostupné z: doi:10.1016/j.apjtm.2016.07.003
- [21] EL-WAHED, Aida A. Abd, Shaden A. M. KHALIFA, Mohamed H. ELASHAL, Syed G. MUSHARRAF, Aamer SAEED a kolektiv. Cosmetic Applications of Bee Venom. *Toxins* [online]. 2021, **13**(11), 1-10 [cit. 2022-09-09]. ISSN 2072-6651. Dostupné z: doi:10.3390/toxins13110810
- [22] BARSZCZ, Weronika a Katarzyna WOJCIECHOWSKA. The use of bee products in cosmetology and dermatology. *Aesthetic Cosmetology and Medicine* [online]. 2022, **11**(4), 147-152 [cit. 2022-11-18]. ISSN 27193241. Dostupné z: doi:10.52336/acm.2022.022
- [23] HAN, Sang Mi, In Phyong HONG, Soon Ok WOO, Sung Nam CHUN, Kwan Kyu PARK a kolektiv. The beneficial effects of honeybee-venom serum on facial wrinkles in humans. *Clinical Interventions in Aging* [online]. 2015, **10**, 1587-1592 [cit. 2022-11-18]. ISSN 1178-1998. Dostupné z: doi:10.2147/CIA.S84940
- [24] RINAUDO, Marguerite. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science* [online]. 2006, **31**(7), 603-632 [cit. 2022-08-27]. ISSN 0079-6700. Dostupné z: doi:10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001

- [25] ARAMWIT, Pornanong, Tippawan SIRITIENTONG a Teerapol SRICHANA. Potential applications of silk sericin, a natural protein from textile industry by-products. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy* [online]. 2012, **30**(3), 217-224 [cit. 2022-11-18]. ISSN 0734-242X. Dostupné z: doi:10.1177/0734242X11404733
- [26] PADAMWAR, Mahesh N., Atmaram P. PAWAR, Aarti V. DAITHANKAR a K. R. MAHADIK. Silk sericin as a moisturizer: an in vivo study. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. 2005, **4**(4), 250-257 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1473-2130. Dostupné z: doi:10.1111/j.1473-2165.2005.00200.x
- [27] ARAMWIT, Pornanong a Areeporn SANGCAKUL. The Effects of Sericin Cream on Wound Healing in Rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* [online]. 2014, **71**(10), 2473-2477 [cit. 2022-11-22]. ISSN 0916-8451. Dostupné z: doi:10.1271/bbb.70243
- [28] TLAŠKOVÁ, Vendula. *Sericin a jeho využití v kosmetice* [online]. Zlín, 2013 [cit. 2023-02-06]. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Dostupné z: <https://digilib.k.utb.cz/handle/10563/24316>
- [29] KLUGE, Jonathan A., Olena RABOTYAGOVA, Gary G. LEISK a David L. KAPLAN. Spider silks and their applications. *Trends in Biotechnology* [online]. 2008, **26**(5), 244-251 [cit. 2023-02-24]. ISSN 0167-7799. Dostupné z: doi:10.1016/j.tibtech.2008.02.006
- [30] EISOLDT, Lukas, Andrew SMITH a Thomas SCHEIBEL. Decoding the secrets of spider silk. *Materials Today* [online]. 2011, **14**(3), 80-86 [cit. 2023-02-24]. ISSN 1369-7021. Dostupné z: doi:10.1016/S1369-7021(11)70057-8
- [31] KARIMI, Bashir Ahmad. Spider Silk: Structure and application. *International Journal of Scientific and Research Publications (IJSRP)* [online]. 2020, **10**(4) [cit. 2023-02-24]. ISSN 2250-3153. Dostupné z: doi:10.29322/IJSRP.10.04.2020.p10055
- [32] BORGES, M.E., R.L. TEJERA, L. DÍAZ, P. ESPARZA a E. IBÁÑEZ. Natural dyes extraction from cochineal (*Dactylopius coccus*). New extraction methods. *Food Chemistry* [online]. 2012, **132**(4), 1855-1860 [cit. 2022-11-22]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2011.12.018
- [33] TAKEO, Naoko, Masashi NAKAMURA, Satoshi NAKAYAMA, Osamu OKAMOTO, Naoki SUGIMOTO a kolektiv. Cochineal dye-induced immediate allergy: Review of Japanese cases and proposed new diagnostic chart. *Allergology*

- International* [online]. 2018, **67**(4), 496-505 [cit. 2022-11-22]. ISSN 1323-8930. Dostupné z: doi:10.1016/j.alit.2018.02.012
- [34] SUDHA, Prasad N. a Maximas H. ROSE. Beneficial Effects of Hyaluronic Acid. In: *Marine Carbohydrates: Fundamentals and Applications, Part A* [online]. Elsevier, 2014, 137-176 [cit. 2022-12-02]. Advances in Food and Nutrition Research. ISBN 9780128002698. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-800269-8.00009-9
- [35] ABDALLAH, Maha M., Naiara FERNÁNDEZ, Ana A. MATIAS a Maria do Rosário BRONZE. Hyaluronic acid and Chondroitin sulfate from marine and terrestrial sources: Extraction and purification methods. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2020, **243**, 1-11 [cit. 2022-11-22]. ISSN 0144-8617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2020.116441
- [36] ANDRE, Pierre. Hyaluronic acid and its use as a “rejuvenation” agent in cosmetic dermatology. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* [online]. 2004, **23**(4), 218-222 [cit. 2022-11-23]. ISSN 1085-5629. Dostupné z: doi:10.1016/j.sder.2004.09.002
- [37] DRAELOS, Zoe Diana, Isabel DIAZ, Jin NAMKOONG, Joanna WU a Thomas BOYD. Efficacy Evaluation of a Topical Hyaluronic Acid Serum in Facial Photoaging. *Dermatology and Therapy* [online]. 2021, **11**(4), 1385-1394 [cit. 2022-12-02]. ISSN 2193-8210. Dostupné z: doi:10.1007/s13555-021-00566-0
- [38] POETSCHKE, Julian, Hannah SCHWAIGER, Stephanie STECKMEIER, Thomas RUZICKA a Gerd G. GAUGLITZ. Hyaluronsäurehaltige Antifaltencremes: Wie gut wirken sie? *MMW-Fortschritte der Medizin* [online]. 2016, **158**(S4), 1-6 [cit. 2022-12-03]. ISSN 1438-3276. Dostupné z: doi:10.1007/s15006-016-8302-1
- [39] MCDERMOTT, Maxwell, Antonio R. CERULLO, James PARZIALE, Eleonora ACHRAK, Sharmin SULTANA a kolektiv. Advancing Discovery of Snail Mucins Function and Application. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [online]. 2021, **9**, 1-9 [cit. 2022-11-24]. ISSN 2296-4185. Dostupné z: doi:10.3389/fbioe.2021.734023
- [40] LANERI, Sonia, Ritamaria Di LORENZO, Antonia SACCHI a Irene DINI. Dosage of Bioactive Molecules in the Nutricosmeceutical *Helix aspersa* Muller Mucus and Formulation of New Cosmetic Cream with Moisturizing Effect. *Natural Product Communications* [online]. 2019, **14**(8), 1-7 [cit. 2022-11-24]. ISSN 1934-578X. Dostupné z: doi:10.1177/1934578X19868606

- [41] CHILAKAMARRY, Chaitanya Reddy, Syed MAHMOOD, Siti Nadiah Binti Mohd SAFFE, Mohd Azmir Bin ARIFIN, Arun GUPTA a kolektiv. Extraction and application of keratin from natural resources: a review. *3 Biotech* [online]. 2021, **11**(5), 1-12 [cit. 2023-02-18]. ISSN 2190-572X. Dostupné z: doi:10.1007/s13205-021-02734-7
- [42] SHARMA, Swati, Arun GUPTA a Ashok KUMAR. Keratin: An Introduction. *Keratin as a Protein Biopolymer* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2019, 1-18 [cit. 2023-02-24]. Springer Series on Polymer and Composite Materials. ISBN 978-3-030-02900-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-02901-2\_1
- [43] MOKREJŠ, Pavel, Matouš HUŤŤA, Jana PAVLAČKOVÁ a Pavlína EGNER. Preparation of Keratin Hydrolysate from Chicken Feathers and Its Application in Cosmetics. *Journal of Visualized Experiments* [online]. 2017, (129), 1-9 [cit. 2023-02-24]. ISSN 1940-087X. Dostupné z: doi:10.3791/56254
- [44] MOKREJS, Pavel, Matous HUTTA, Jana PAVLACKOVA, Pavlina EGNER a Lubomir BENICEK. The cosmetic and dermatological potential of keratin hydrolysate. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. 2017, **16**(4), 1-7 [cit. 2023-02-24]. ISSN 1473-2130. Dostupné z: doi:10.1111/jocd.12319
- [45] NAGAE, Masumi, Maki NAGATA, Mitsuhiro TERAMOTO, Masayuki YAMAKAWA, Takahiro MATSUKI a kolektiv. Effect of Porcine Placenta Extract Supplement on Skin Condition in Healthy Adult Women: A Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Study. *Nutrients* [online]. 2020, **12**(6), 1-12 [cit. 2023-02-25]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu12061671
- [46] AIOI, Akihiro, Ryuta MUROMOTO, Sho MOGAMI, Megumi NISHIKAWA, Shigeyuki OGAWA a kolektiv. Porcine Placenta Extract Reduced Wrinkle Formation by Potentiating Epidermal Hydration. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications* [online]. 2021, **11**(02), 101-109 [cit. 2023-02-25]. ISSN 2161-4105. Dostupné z: doi:10.4236/jcdsa.2021.112011
- [47] JILO, Kula. Medicinal Values of Camel Milk. *International Journal of Veterinary Science and Research* [online]. 2016, **2**(1), 18-25 [cit. 2023-02-27]. ISSN 2640-7604. Dostupné z: doi:10.17352/ijvsr.000009
- [48] JILO, Kula a Dechasa TEGEGNE. Chemical Composition and Medicinal Values of Camel Milk. *International Journal of Research Studies in Biosciences* [online]. 2016, **4**(4), 13-25 [cit. 2023-02-27]. ISSN 2349-0365. Dostupné z: doi:10.20431/2349-0365.0404002



- [49] KONUSPAYEVA, Gaukhar a Bernard FAYE. Recent Advances in Camel Milk Processing. *Animals* [online]. 2021, **11**(4), 1-22 [cit. 2023-02-27]. ISSN 2076-2615. Dostupné z: doi:10.3390/ani11041045
- [50] ALAMGIR, A. N. M. Bioactive Compounds and Pharmaceutical Excipients Derived from Animals, Marine Organisms, Microorganisms, Minerals, Synthesized Compounds, and Pharmaceutical Drugs. In: *Therapeutic Use of Medicinal Plants and their Extracts* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2018, **2**, 311-406 [cit. 2023-01-31]. Progress in Drug Research. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-92387-1\_4
- [51] PEREIRA, Tatiana, Carolina GUERREIRO, Monica MARUNO, Marcio FERRARI a Pedro ROCHA-FILHO. Exotic Vegetable Oils for Cosmetic O/W Nanoemulsions: In Vivo Evaluation. *Molecules* [online]. 2016, **21**(3), 1-16 [cit. 2023-02-02]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules21030248
- [52] CASADIDIO, Cristina, Dolores Vargas PEREGRINA, Maria Rosa GIGLIOBIANCO, Siyuan DENG, Roberta CENSI a kolektiv. Chitin and Chitosans: Characteristics, Eco-Friendly Processes, and Applications in Cosmetic Science. *Marine Drugs* [online]. 2019, **17**(6), 1-30 [cit. 2023-02-03]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:10.3390/md17060369
- [53] ARANAZ, Inmaculada, Niuris ACOSTA, Concepción CIVERA, Begoña ELORZA, Javier MINGO a kolektiv. Cosmetics and Cosmeceutical Applications of Chitin, Chitosan and Their Derivatives. *Polymers* [online]. 2018, **10**(2), 1-25 [cit. 2023-02-03]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym10020213
- [54] JIMTAISONG, A. a N. SAEWAN. Utilization of carboxymethyl chitosan in cosmetics. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2014, **36**(1), 12-21 [cit. 2023-02-04]. ISSN 0142-5463. Dostupné z: doi:10.1111/ics.12102
- [55] COSTA, E. M., S. SILVA, M. R. COSTA, M. PEREIRA, D. A. CAMPOS a kolektiv. Chitosan mouthwash: Toxicity and in vivo validation. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2014, **111**, 385-392 [cit. 2023-02-06]. ISSN 0144-8617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2014.04.046
- [56] ALVES, Ana, Ana MARQUES, Eva MARTINS, Tiago SILVA a Rui REIS. Cosmetic Potential of Marine Fish Skin Collagen. *Cosmetics* [online]. 2017, **4**(4), 1-16 [cit. 2023-02-07]. ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics4040039

- [57] GEAHCHAN, Sarah, Parnian BAHARLOUEI a Azizur RAHMAN. Marine Collagen: A Promising Biomaterial for Wound Healing, Skin Anti-Aging, and Bone Regeneration. *Marine Drugs* [online]. 2022, **20**(1), 1-16 [cit. 2023-02-07]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:10.3390/md20010061
- [58] MARTINS, Eva, Rui L. REIS a Tiago H. SILVA. In Vivo Skin Hydrating Efficacy of Fish Collagen from Greenland Halibut as a High-Value Active Ingredient for Cosmetic Applications. *Marine Drugs* [online]. 2023, **21**(2), 1-19 [cit. 2023-02-07]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:10.3390/md21020057
- [59] LU, Wen-Chien, Chien-Shan CHIU, Yung-Jia CHAN, Tian-Pin GUO, Ching-Chin LIN a kolektiv. An In Vivo Study to Evaluate the Efficacy of Blue Shark (*Prionace glauca*) Cartilage Collagen as a Cosmetic. *Marine Drugs* [online]. 2022, **20**(10), 1-14 [cit. 2023-02-07]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:10.3390/md20100633
- [60] SIONKOWSKA, Alina, Katarzyna ADAMIAK, Katarzyna MUSIAŁ a Magdalena GADOMSKA. Collagen Based Materials in Cosmetic Applications: A Review. *Materials* [online]. 2020, **13**(19), 1-15 [cit. 2023-02-10]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma13194217
- [61] AGUIRRE-CRUZ, Gabriel, Arely LEÓN-LÓPEZ, Verónica CRUZ-GÓMEZ, Rubén JIMÉNEZ-ALVARADO a Gabriel AGUIRRE-ÁLVAREZ. Collagen Hydrolysates for Skin Protection: Oral Administration and Topical Formulation. *Antioxidants* [online]. 2020, **9**(2), 1-17 [cit. 2023-02-07]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox9020181
- [62] EVANS, Malkanthi, Erin D. LEWIS, Nisrine ZAKARIA, Tetyana PELIPYAGINA a Najla GUTHRIE. A randomized, triple-blind, placebo-controlled, parallel study to evaluate the efficacy of a freshwater marine collagen on skin wrinkles and elasticity. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. 2021, **20**(3), 825-834 [cit. 2023-02-24]. ISSN 1473-2130. Dostupné z: doi:10.1111/jocd.13676
- [63] SWATSCHEK, Dieter, Wolfgang SCHATTON, Josef KELLERMANN, Werner E. G. MÜLLER a Jörg KREUTER. Marine sponge collagen: isolation, characterization and effects on the skin parameters surface-pH, moisture and sebum. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2002, **53**(1), 107-113 [cit. 2023-02-27]. ISSN 0939-6411. Dostupné z: doi:10.1016/S0939-6411(01)00192-8

- [64] ADDAD, Sourour, Jean-Yves EXPOSITO, Clément FAYE, Sylvie RICARD-BLUM a Claire LETHIAS. Isolation, Characterization and Biological Evaluation of Jellyfish Collagen for Use in Biomedical Applications. *Marine Drugs* [online]. 2011, **9**(6), 967-983 [cit. 2023-02-19]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:10.3390/md9060967
- [65] KRISHNAMOORTHY, Jayalakshmi, Pasiyappazham RAMASAMY, Vairamani SHANMUGAM a Annaian SHANMUGAM. Isolation and partial characterization of collagen from outer skin of *Sepia pharaonis* (Ehrenberg, 1831) from Puducherry coast. *Biochemistry and Biophysics Reports* [online]. 2017, **10**, 39-45 [cit. 2023-02-26]. ISSN 2405-5808. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrep.2017.02.006
- [66] LEE, Ka-jeong. Biochemical Characterization of Collagen from the Starfish *Asterias amurensis*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* [online]. 2009, **52**(3), 221-226 [cit. 2023-02-26]. ISSN 1738-2203. Dostupné z: doi:10.3839/jksabc.2009.040
- [67] HUANG, Tse-Hung, Pei-Wen WANG, Shih-Chun YANG, Wei-Ling CHOU a Jia-You FANG. Cosmetic and Therapeutic Applications of Fish Oil's Fatty Acids on the Skin. *Marine Drugs* [online]. 2018, **16**(8), 1-20 [cit. 2023-02-26]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:10.3390/md16080256
- [68] PUGLIA, Carmelo, Salvatore TROPEA, Luisa RIZZA, Natale Alfredo SANTAGATI a Francesco BONINA. In vitro percutaneous absorption studies and in vivo evaluation of anti-inflammatory activity of essential fatty acids (EFA) from fish oil extracts. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2005, **299**(1-2), 41-48 [cit. 2023-02-26]. ISSN 0378-5173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2005.04.031
- [69] BARCELOS, Raquel C. S., Cristina DE MELLO-SAMPAYO, Caren T. D. ANTONIAZZI, Hecson J. SEGAT, Henrique SILVA a kolektiv. Oral supplementation with fish oil reduces dryness and pruritus in the acetone-induced dry skin rat model. *Journal of Dermatological Science* [online]. 2015, **79**(3), 298-304 [cit. 2023-02-26]. ISSN 0923-1811. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdermsci.2015.06.015
- [70] RIAD, Nacera, Mohamed Reda ZAHI, Naima BOUZIDI, Yasmina DAGHBOUCHE, Ouassila TOUAFEK a kolektiv. Occurrence of Marine

- Ingredients in Fragrance: Update on the State of Knowledge. *Chemistry* [online]. 2021, **3**(4), 1437-1463 [cit. 2023-02-27]. ISSN 2624-8549. Dostupné z: doi:10.3390/chemistry3040103
- [71] SRINIVASAN, T M. Historical Notes: Ambergris in Perfumery in the Past and Present Indian Context and the Western World. *Indian Journal of History of Science* [online]. 2015, **50**(2), 306-323 [cit. 2023-02-27]. ISSN 0019-5235. Dostupné z: doi:10.16943/ijhs/2015/v50i2/48241
- [72] PALUMBO, Anna. Melanogenesis in the Ink Gland of *Sepia officinalis*. *Pigment Cell Research* [online]. 2003, **16**(5), 517-522 [cit. 2023-02-27]. ISSN 0893-5785. Dostupné z: doi:10.1034/j.1600-0749.2003.00080.x
- [73] NEIFAR, Aref, Imen BEN ABDELMALEK, Ghada BOUAJILA, Rakia KOLSI, Mohamed Nejmeddine BRADAI a kolektiv. Purification and incorporation of the black ink of cuttlefish *Sepia officinalis* in eye cosmetic products. *Coloration Technology* [online]. 2013, **129**(2), 150-154 [cit. 2023-02-27]. ISSN 1472-3581. Dostupné z: doi:10.1111/cote.12009
- [74] HORNOVÁ, Johanka. *Účinek kolagenního hydrolyzátu na pokožku* [online]. Zlín, 2022 [cit. 2023-04-29]. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Ing. Aneta Polaščíková. Dostupné z: [https://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/50580/hornov%C3%A1\\_2022\\_dp.pdf?sequence=-1](https://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/50580/hornov%C3%A1_2022_dp.pdf?sequence=-1)
- [75] SRNEC, Adam. *Studium účinnosti formulací s obsahem kolagenního hydrolyzátu in vivo* [online]. Zlín, 2020 [cit. 2023-04-29]. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Ing. Jana Pavlačková, Ph.D. Dostupné z: <https://digilib.k.utb.cz/handle/10563/49103>
- [76] AMNUAIKIT, Thanaporn, Rajeev SHANKAR a Soottawat BENJAKUL. Hydrolyzed Fish Collagen Serum from By-Product of Food Industry: Cosmetic Product Formulation and Facial Skin Evaluation. *Sustainability* [online]. 2022, **14**(24), 1-13 [cit. 2023-05-07]. ISSN 2071-1050. z: doi:10.3390/su142416553
- [77] Nature-Store. Rybí kolagen premium 10 g. *Nature-Store: Nature is Future* [online]. ©2023 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: <https://www.nature-store.cz/aktivnilatky/rybi-kolagen-premium-10g/>

- [78] Kenney& Ross Limited. Safety data sheet – Hydrolyzed Fish Collagen. In: *Kenney& Ross Limited* [online]. 2022 [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: [https://www.kenneyandross.com/images/swmenupro/Hydrolyzed\\_Fish\\_Collagen\\_Safety\\_Data\\_Sheet\\_v1\\_6.pdf](https://www.kenneyandross.com/images/swmenupro/Hydrolyzed_Fish_Collagen_Safety_Data_Sheet_v1_6.pdf)
- [79] The Corneometer CM 825: Technical charges. 2013.
- [80] The Tewameter TM 300: Technical charges. 2013.
- [81] The skin-pH-meter PH 905: Technical charges. 2013.
- [82] SIVAMANI, Raja, Jared R. JAGDEO, Peter ELSNER a Howard I. MAIBACH. *Cosmeceuticals and Active Cosmetics* [online]. CRC Press, 2015 [cit. 2023-05-07]. ISBN 9780429192388. Dostupné z: doi:10.1201/b18895
- [83] BERARDESCA, E. EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Research and Technology* [online]. 1997, **3**(2), 126-132 [cit. 2023-05-11]. ISSN 0909-752X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0846.1997.tb00174.x
- [84] FLUHR, Joachim W., Peter ELSNER, Enzo BERARDESCA a Howard I. MAIBACH. *Bioengineering of the Skin* [online]. CRC Press, 2004 [cit. 2023-05-11]. ISBN 9781420040111. Dostupné z: doi:10.1201/b14244
- [85] GUPTA, P. a S. GARG. Recent advances in semisolid dosage forms for dermatological application. *Pharmaceutical Technology* [online]. 2002, **26**(3),144-162 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: <https://cdn.sanity.io/files/0vv8moc6/pharmtech/b0ccaa16eae4670b95225d8b173deb53d865dc9.pdf/article-12404.pdf>
- [86] MILANI, Massimo a Adele SPARAVIGNA. The 24-hour skin hydration and barrier function effects of a hyaluronic 1%, glycerin 5%, and Centella asiatica stem cells extract moisturizing fluid: an intra-subject, randomized, assessor-blinded study. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* [online]. 2017, **10**, 311-315 [cit. 2023-05-06]. ISSN 1178-7015. Dostupné z: doi:10.2147/CCID.S144180
- [87] ROGIERS, Vera. EEMCO Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss in Cosmetic Sciences. *Skin Pharmacology and Physiology* [online]. 2001, **14**(2), 117-128 [cit. 2023-05-11]. ISSN 1660-5527. Dostupné z: doi:10.1159/000056341

- [88] PARRA, J. L. a M. PAYE. EEMCO Guidance for the in vivo Assessment of Skin Surface pH. *Skin Pharmacology and Physiology* [online]. 2003, **16**(3), 188-202 [cit. 2023-05-11]. ISSN 1660-5527. Dostupné z: doi:10.1159/000069756
- [89] Courage + Khazaka electronic GmbH. *Information and Instruction Manual for the Skin-Visiometer® SV 700 USB and its Software*. Germany, 2016.
- [90] LEÓN-LÓPEZ, Arely, Alejandro MORALES-PEÑALOZA, Víctor Manuel MARTÍNEZ-JUÁREZ, Apolonio VARGAS-TORRES, Dimitrios I. ZEUGOLIS a kolektiv. Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications. *Molecules* [online]. 2019, **24**(22), 1-16 [cit. 2023-05-12]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24224031
- [91] RAWLINGS, A. V., David A. CANESTRARI a Brian DOBKOWSKI. Moisturizer technology versus clinical performance. *Dermatologic Therapy* [online]. 2004, **17**, 49-56 [cit. 2023-05-12]. ISSN 1396-0296. Dostupné z: doi:10.1111/j.1396-0296.2004.04S1006.x
- [92] HAEUSLER, H. Efficacy of a Hyaluronic Acid Gel to Improve the Skin Properties [online]. 2015, **9**, 16-18 [cit. 2023-05-12]. Dostupné z: <https://experchem.com/files/news/attachment/72c3f4f4-0c1b-4d05-ae74-29f3d9b8c196/0915-PDF-Expertchem-Haeusler-E-200dpi.pdf>
- [93] KWON, Min-Chul, Cheol-Hee KIM, Hyo-Sung KIM, Abdul Qadir SYED, Bo-Yong HWANG a kolektiv. Anti-wrinkle Activity of Low Molecular Weight Peptides Derived from the Collagen Isolated From *Asterias amurensis*. *Korean Journal of Food Science and Technology* [online]. 2007, **39**(6), 625-629 [cit. 2023-05-12]. Dostupné z: <https://koreascience.kr/article/JAKO200709905802790.page>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

USA	Spojené státy americké
pH	potenciál vodíku
TEWL	transepidermální ztráta vody
UV	ultrafialové záření
NMF	Natural Moisturizing Factor
KH	kolagenní hydrolyzát
DHA	dokosahexaenová kyselina
EPA	eikosapentaenová kyselina
UVB	středněvlnné záření
k. j.	korneometrická jednotka
$\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$	jednotka TEWL
INCI	mezinárodní nomenklatura kosmetických přísad
GPC-RID	gelová permeační chromatografie s refraktometrickou detekcí

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 Rozdělení zoocutik podle živočišného původu – upraveno podle [7].....	13
Obrázek 2 Visioskop <sup>®</sup> PC 35 a MPA 5 stanice se sondami .....	34
Obrázek 3 Visiometr <sup>®</sup> SV 700 s vakuovou pumpou a pomůckami pro zhotovení silikonových replik .....	34
Obrázek 4 Testované formulace .....	36
Obrázek 5 Měřené periorbitální oblasti obličeje dobrovolnic .....	37
Obrázek 6 Hydratace periorbitální oblasti ve sledovaném období – levá strana.....	43
Obrázek 7 Hydratace periorbitální oblasti ve sledovaném období – pravá strana.....	43
Obrázek 8 TEWL periorbitální oblasti ve sledovaném období – levá strana .....	45
Obrázek 9 TEWL periorbitální oblasti ve sledovaném období – pravá strana.....	45
Obrázek 10 Průměrné hodnoty pH – levá strana .....	47
Obrázek 11 Průměrné hodnoty pH – pravá strana.....	47
Obrázek 12 Průměrné množství vrásek .....	48
Obrázek 13 Snímky vrásek před a po 8 týdnech aplikace formulace a) placebo, b) s 0,5 % kolagenu, c) s 1,5 % kolagenu .....	49
Obrázek 14 Průměrné hodnoty parametrů drsnosti pokožky ošetřené placebem.....	52
Obrázek 15 Průměrné hodnoty parametrů drsnosti pokožky ošetřené gelovou formulací s 0,5 % kolagenu .....	52
Obrázek 16 Průměrné hodnoty parametrů drsnosti pokožky ošetřené gelovou formulací s 1,5 % kolagenu .....	53
Obrázek 17 Snímky reliéfu pokožky před a po 8 týdnech aplikace formulace a) placebo, b) s 0,5 % kolagenu, c) s 1,5 % kolagenu .....	54
Obrázek 18 Snímky 3D reliéfu kůže před a po 8 týdnech aplikace příslušné formulace a) placebo, b) s 0,5 % kolagenu, c) s 1,5 % kolagenu .....	55
Obrázek 19 Distribuce molekulových hmotností vzorku KH .....	56



## SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Prohlášení účastníka studie

Příloha P II: Individuální informovaný souhlas

Příloha P III A: Dotazník pro účastníka měření

Příloha P III B: Dotazník pro účastníka měření

# PŘÍLOHA P I: PROHLÁŠENÍ ÚČASTNÍKA STUDIE

## Prohlášení účastníka

Souhlasím se svou účastí v testování modelových formulací s rybím kolagenem. Beru na vědomí, že experiment může zahrnovat riziko nežádoucích účinků na kůži. Toto riziko mi bylo detailně objasněno a mohl(a) jsem se informovat o všech podrobnostech experimentu.

Vím, že mohu kdykoliv odvolat svůj souhlas s účastí v experimentu a mohu kdykoliv odstoupit od své účasti.

Mohu si vyžádat další informace o experimentu a oznámit nežádoucí účinky u zodpovědného pracovníka.

Souhlasím, že data získaná během experimentu mohou být statisticky zpracována. Veškeré údaje o průběhu a výsledcích měření, které mne mohou identifikovat, zůstanou přísně důvěrné.

**Prohlašuji, že toto poučení plně chápu a podepisuji ho při plném vědomí.**

.....  
plně jméno účastníka cvičení

.....  
podpis účastníka cvičení

Ve Zlíně dne .....

# PŘÍLOHA P II: INDIVIDUÁLNÍ INFORMOVANÝ SOUHLAS

## Individuální informovaný souhlas

V rámci realizace experimentální části bakalářské práce budou na Vaši kůži v periorbitální oblasti aplikovány modelové gelové formulace s rybím kolagenem. Všechny známé informace o přísadách obsažených v modelových formulacích dovolují testování na dobrovolnících.

### Cíl studie

Cílem práce je zjistit odezvu Vaší pokožky na aplikovanou modelovou formulaci pomocí exaktně změřených veličin.

### Podmínky účasti

Před zahájením vlastního experimentu je nutno vyplnit dotazník (viz příloha č. 3). Součástí dotazníku jsou údaje o Vašem zdravotním stavu, alergiích, kožních problémech, o užívaných lécích a o dřívější účasti v obdobných studiích. Na základě Vašich pravdivých odpovědí bude rozhodnuto o účasti v daném cvičení.

### Metodika testu

Experiment bude prováděn zaškolenými studentkami bakalářského studia pod dohledem kvalifikovaných pracovníků Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky. Plánovaná práce zahrnuje: aplikaci a testování účinnosti modelových formulací na pokožku v periorbitální oblasti pomocí bioinženýrských metod.

### Odstoupení z laboratorní práce

Z práce je možno odstoupit při výskytu závažnějších potíží po dohodě s vedoucím bakalářské práce.

### Rizika a nepříjemnosti

Během práce může dojít k lehkému podráždění pokožky. Místo aplikace může zrudnout nebo zčervenat, dočasně pálit, svědit nebo se vysušit. Nejsilnější očekávanou reakcí je zrudnutí. Nejsou očekávány žádné trvalé následky.

# PŘÍLOHA P III A: DOTAZNÍK PRO ÚČASTNÍKA MĚŘENÍ

## Dotazník pro účastníka měření

Jméno:  
Příjmení:  
Věk:  
Pohlaví:  
Kód pokusné osoby (evidenční číslo):

### Současný zdravotní stav:

Vyskytuje se u Vás nyní:	ano	ne	jaké
lupénka			-----
ekzém			-----
rakovina kůže			-----
jiné kožní problémy a onemocnění			
jizvy, mateřská znamínka, jiné vady kůže v místě testu			-----
zarudnutí kůže po slunění nebo z jiného důvodu v místě testu			-----
astma vyžadující denní příjem léků			-----
jiné chronické respirační onemocnění			
diabetes vyžadující léčbu inzulínem			-----
onemocnění imunitního systému			

### Zdravotní stav v minulosti

Prodělal(a) jste:	ano	ne
transplantaci orgánů		
léčbu maligního nádoru v posledních 6 měsících		

### Užívání léků

Berete či používáte pravidelně:	ano	ne	jaké
protizánětlivé léky (např. aspirin, ibuprofen, hydrokortizon, nebo jiné steroidy)			
imunosupresivní léky (např. cyklosporin A)			
jiné léky			

### Alergologická léčba

Probíhá u vás v současné době:	ano	ne	jaká
alergologická léčba (kapky, injekce, apod.)			
dostali jste poslední dávku během minulého týdne			-----
očekáváte další dávky v průběhu studie			-----

# PŘÍLOHA P III B: DOTAZNÍK PRO ÚČASTNÍKA STUDIE

## Dotazník pro účastníka měření

Jméno:  
Příjmení:  
Věk:  
Pohlaví:  
Kód pokusné osoby (evidenční číslo):

### Současný zdravotní stav:

Vyskytuje se u Vás nyní:	ano	ne	jaké
lupénka			-----
ekzém			-----
rakovina kůže			-----
jiné kožní problémy a onemocnění			
jizvy, mateřská znaménka, jiné vady kůže v místě testu			-----
zarudnutí kůže po slunění nebo z jiného důvodu v místě testu			-----
astma vyžadující denní příjem léků			-----
jiné chronické respirační onemocnění			
diabetes vyžadující léčbu inzulínem			-----
onemocnění imunitního systému			

### Zdravotní stav v minulosti

Prodělal(a) jste:	ano	ne
transplantaci orgánů		
léčbu maligního nádoru v posledních 6 měsících		

### Užívání léků

Berete či používáte pravidelně:	ano	ne	jaké
protizánětlivé léky (např. aspirin, ibuprofen, hydrokortizon, nebo jiné steroidy)			
imunosupresivní léky (např. cyklosporin A)			
jiné léky			

### Alergologická léčba

Probíhá u vás v současné době:	ano	ne	jaká
alergologická léčba (kapky, injekce, apod.)			
dostali jste poslední dávku během minulého týdne			-----
očekáváte další dávky v průběhu studie			-----