

АНАЛІТИЧНІ ПИТАННЯ МЕТОДОЛОГІЇ ОЦІНКИ БЕЗПЕЧНОСТІ КОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Яструб Т. О., Пригунова В. В., Худенко Н. В., Донцова Д. О., Григор'єва К. В., Коваленко В. Ф.

Державна установа «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Вступ. З липня 2013 року в країнах Європейського Союзу (ЄС) вступила в силу заборона тестування косметичних засобів на тваринах, яку підтримали ряд країн світу, у тому числі й Україна. Поряд з цим лишається актуальною проблематика впровадження альтернативних методів тестування косметичних засобів, визначення кінцевих токсикологічних точок і стратегій тестування нових інгредієнтів. У статті наведений практичний огляд методів оцінки безпечності косметичних засобів з урахуванням сучасних підходів, які використовуються на території ЄС.

Мета дослідження — аналітичний огляд сучасних методів оцінки безпечності косметичних засобів.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження побудовано на аналізі вітчизняних і зарубіжних видань, чинних нормативно-правових актів та керівних документів міжнародних організацій, які регулюють обіг косметичних засобів.

Результати. Оцінка безпечності косметичних засобів передбачає використання різних підходів, включаючи дані тестувань з використанням тварин (*in vivo*), які були проведені до 2013 року, методи з використанням клітинних ліній і тканин (*in vitro*) та методи комп'ютерного моделювання (*in silico*). Пошкоджуюча дія косметичних засобів на шкіру найчастіше оцінюється з використанням тривимірних моделей штучної шкіри, а пошкоджуюча дія на очі досліджується як методами клітинного аналізу, так і з використанням очей загиблих тварин. Поряд з цим наявні альтернативні методи не задовільняють потреби в оцінці всіх токсикологічних показників (гострої токсичності, ембріональної токсичності, вплив на ендокринні органи, канцерогенності, оцінки повторних доз). У таких умовах особливої актуальності набувають методи комп'ютерного моделювання.

Висновки. Оцінка безпечності косметичних засобів потребує ретельного планування та розробки стратегій тестування, які включають пошук наявної інформації щодо тестувань, які були проведені на тваринах, застосування альтернативних моделей *in vitro* та залучення методів *in silico*.

Ключові слова: косметичні засоби, оцінка безпечності, альтернативні методи, методи комп'ютерного моделювання

Вступ

У липні 2013 року набув чинності Регламент Європейського парламенту та Ради ЄС від 30 листопада 2009 року № 1223/2009 «Про косметичні засоби» (Регламент ЄС), який спрямований на забезпечення захисту здоров'я споживачів, встановлення правил щодо оцінки безпечності продукції, а також заборону досліджень на тваринах. На основі Регламенту ЄС в Україні створено Технічний регламент на косметичну продукцію, затверджений постановою Кабінету Міністрів України від 20 січня 2021 року № 65 (Технічний регламент). Основними цілями прийняття Технічного регламенту є гармонізація технічних вимог до європейського законодавства та усунення юридичних, адміністративних і технічних бар'єрів у торгівлі з краї-

нами ЄС. У Технічному регламенті додаткова увага наділяється оцінці безпечності косметичних засобів, яка має бути проведена без використання тварин. У нових регуляторних умовах на перший план виходить ефективне планування та розробка стратегій тестування, що особливо актуально у випадку наявності нових інгредієнтів.

Мета дослідження — аналітичний огляд сучасних методів оцінки безпечності косметичних засобів.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження побудовано на аналізі вітчизняних і зарубіжних видань, чинних нормативно-правових актів та керівних документів міжнародних організацій, які регулюють обіг косметичних засобів.

Результати дослідження та їх обговорення

У країнах ЄС обіг косметичних засобів регулюється рядом організацій, найвагомішими серед яких є наступні: 1) Європейський Центр з валідації альтернативних методів (European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing, EURL ECVAM) – відіграє ключову роль у розробці, валідації та визнанні альтернативних методів в ЄС; 2) Науковий комітет з безпеки споживачів (Scientific Committee on Consumer Safety, SCCS) – надає висновки щодо ризиків для здоров'я та безпеки непродовольчих споживчих товарів (косметичних продуктів та їхніх інгредієнтів, іграшок, текстилю, одягу, предметів особистої гігієни та домашнього вжитку) і послуг; алгоритми оцінки безпечності косметичних засобів; 3) Регламент ЄС (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals, REACH) – організація, відповідальна за оцінку, дозвіл або обмеження обігу хімічних речовин. До цілей REACH відноситься забезпечення високого рівня захисту здоров'я людини та оточуючого середовища від використання хімічних речовин і сприяння використанню альтернативних методів оцінки небезпечних властивостей речовин, наприклад, кількісних співвідношень структура-активність (Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR); 4) Міжнародна Організація економічного співробітництва та розвитку (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD) – надає керівні принципи тестування хімічних речовин, які можуть бути використані для дослідження косметичної продукції.

Враховуючи те, що за основу Технічного регламенту взятий Регламент ЄС, принципи оцінки безпечності косметичних засобів, що реалізуються відповідно до рекомендацій вищезгаданих організацій, можуть бути прийнятними й на території України.

Задля виконання вимог Технічного регламенту, експерт з косметичних засобів повинен провести детальну оцінку інгредієнтів і готового косметичного складу та скласти звіт щодо безпечності косметичного засобу, при цьому належним чином обґрунтувати відсутність окремих показників. З практичної точки зору найвагомішим і трудомістким видається отримання даних звіту, які стосуються токсикологічного профілю речовин.

Проводячи оцінку токсикологічного профілю, експерт з косметичних засобів має проаналізувати наступне:

- 1) дані щодо місцевої токсичності, отримані з використанням альтернативних моделей тестування (подразнення шкіри та очей, сенсibiliзація шкіри, фототоксичність і системна дія);
- 2) дані *in vivo* для оцінки ступеня безпечності інгредієнтів косметичних засобів (Margin of Safety, MoS), обґрунтованого на рівні доз, при яких не спостерігаються пошкоджуючі ефекти (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL);
- 3) у випадках, коли вищезгадані джерела не надають необхідної інформації, для оцінки безпечності доцільне застосування методів *in silico*.

У країнах ЄС оцінка місцевого та системного впливу косметичних засобів проводиться з використанням альтернативних моделей, які затверджені EURL ECVAM і включені до алгоритмів OECD (табл. 1).

Пошкоджуюча дія на шкіру досліджується з використанням тривимірних моделей штучної шкіри, до яких належать тканини EpiSkin™, EpiDerm™, SkinEthic™ та epiCS® (OECD 431 – корозія шкіри, OECD 439 – подразнення шкіри). У даних алгоритмах OECD як кінцева точка оцінюється життєздатність клітин за допомогою колориметричного методу (MTT-тест). Обмеженням алгоритму OECD 439 є неможливість використання аерозолів і газів, а тестування речовин, які поглинають світло в тому самому діапазоні, що і MTT формазану та фарбуючих речовин, потребуватимуть додаткових адаптованих контролів і більш ретельної інтерпретації результатів. Тривимірні моделі штучної шкіри імітують функцію реальної шкіри людини *in vivo*, однак неповне дозрівання рогового шару може бути причиною порушення бар'єрної функції та, як наслідок, підвищеної проникності інгредієнтів [12].

Поряд з тривимірними моделями штучної шкіри для оцінки пошкоджуючої дії певних класів хімічних речовин може бути використана мембрана Corrositex® (OECD 435 – метод дослідження мембранного бар'єра на корозію шкіри). Мембрана Corrositex® представляє собою відновлену колагенову матрицю з фізичними властивостями, аналогічними шкірі щура. Метод дослідження мембранного бар'єра ґрунтується на визначенні часу, необхідно для проходження випробуваного матеріалу крізь мембрану в систему виявлення хімічної речовини.

Таблиця 1

Альтернативні моделі, затверджені EURL ECVAM

Модель <i>in vitro</i>	Виробник	Характеристика моделі	OECD
EpiSkin™	Skin Ethics Laboratories	Реконструйований еквівалент епідермісу людини	OECD 431 [1], OECD 439 [2]
EpiDerm™	Mat Tek Corporation	Реконструйований еквівалент епідермісу людини	OECD 431 [1], OECD 439 [2]
SkinEthic™	Skin Ethics Laboratories	Реконструйований еквівалент епідермісу людини	OECD 431 [1], OECD 439 [2]
epiCS®	Cell Systems	Реконструйований еквівалент епідермісу людини	OECD 431 [1], OECD 439 [2]
Corrositex®	In Vitro International	Біомембрана та система виявлення певних класів хімічних речовин	OECD 435 [3]
SkinEthic™ HCE	SkinEthic Laboratories	Епітеліальні клітини рогівки людини	OECD 492 [4]
EpiOcular™	MatTek Corporation	Епітеліальні клітини рогівки людини	OECD 492 [4]
SIRC	—	Моношар клітин кролячої рогівки (Statens Seruminstitut Rabbit Cornea)	OECD 491 [5]
MDCK	—	Епітеліальні клітини нирки собаки	OECD 460 [6]
Рогівка ізольованого ока великої рогатої худоби	—	—	OECD 437 [7]
Рогівка ізольованого ока курчат	—	—	OECD 438 [8]
BALB/c 3T3	—	Постійна лінія клітин фібробластів миші	OECD 432 [9], OECD 129 [10]
U937	—	Клітинна лінія гістіоцитарної лімфоми	OECD 442 E [11]
THP-1	—	Клітинна лінія моноцитарного лейкозу людини	OECD 442 E [11]

Тест-система складається з двох компонентів: біомембрани та хімічної системи виявлення (Chemical Detection System, CDS). Пошкодження мембранного бар'єра виявляється CDS або зміною кольору індикаторного розчину (за рахунок зміни pH), або зміною консистенції на межі розділу зразок/тестова рідина. Присвоєна класифікація хімічної речовини заснована на часі (у хвилинах), який потрібний хімічній речовині для проникнення крізь мембранний бар'єр. Цей метод використовується для випробування твердих речовин (розчинних або нерозчинних у воді), рідин та емульсій, зразки можуть бути чистими хімічними речовинами, розчинами або сумішами. Даний метод вважається придатним для обмеженої області застосування, а саме, для кислот, основ та їхніх похідних, і не застосовний для газів та аерозолів; також цей метод не надає інформації про подразнення шкіри [13, 3].

Пошкоджуюча дія на очі оцінюється з використанням тривимірних моделей рогівки ока — EpiOcular™ і SkinEthic™ HCE (OECD 492 —

метод для оцінки подразнення або пошкодження рогівки ока). Тривимірні моделі тканин рогівки складаються з епітеліальної тканини рогівки, оскільки це перше місце контакту зі зовнішнім середовищем і вважається найважливішою частиною для визначення подразнення очей. Моделі вирощуються на проникній основі і відрізняються лише джерелом клітин. У тканинах EpiOcular™ використовуються кератиноцити нормальної шкіри людини, які диференціюються в стратифікований сквамозний очний епітелій, у тканинах SkinEthic™ HCE — клітини рогівки людини [14]. Пошкоджуюча дія хімічної речовини оцінюється шляхом вимірювання життєздатності клітин за допомогою MTT-тесту [4].

Пошкодження очей також досліджується з використанням клітинної лінії рогівки кроля (OECD 491 — оцінка потенціалу небезпечності для очей методом короточасного впливу) та моношару трубчатих епітеліальних клітин нирки собаки (OECD 460 — метод випробування на

витік флуоресцеїну для виявлення очних корозій і сильних подразників).

Клітини роги кроля (Statens Seruminstitut Rabbit Cornea, SIRC) часто застосовуються для тестування офтальмологічних препаратів як модель епітеліального бар'єра роги для вивчення проникності. Оцінка потенціалу небезпечності для очей методом короткочасного впливу полягає в дослідженні цитотоксичності шляхом вимірювання життєздатності клітин SIRC за допомогою MTT-тесту після 5-хв впливу двох концентрацій досліджуваної речовини (5 % та 0,5 %). Зниження життєздатності клітин використовується для прогнозування потенційних несприятливих ефектів, що призводять до ушкодження ока [5].

Епітеліальні клітини нирки собаки (Madin-Darby Canine Kidney cells, MDCK) вирощуються на напівпроникних вставках та імітують непроліферуючий стан епітелію роги. Клітини MDCK утворюють щільні міжклітинні контакти, подібні до тих, які виявляються на апікальній стороні епітелію кон'юнктиви та роги, і запобігають проникненню сторонніх речовин в епітелій роги. Суть методу випробувань на витік флуоресцеїну для виявлення очної корозії та сильних подразників полягає в наступному. Випробувана речовина наноситься на шар клітин MDCK, що розростаються на апікальній стороні вставки (приблизно на 1 хв), після видалення випробуваної речовини на 30 хв наноситься флуоресцеїн. Наявність пошкодження визначається шляхом спектрофлуориметричного вимірювання концентрації флуоресцеїну, який просочується крізь моношар клітин впродовж певного періоду часу. Втрата трансепітеліального бар'єра через пошкодження десмосомальних з'єднань є однією з ранніх подій при подразненні очей, спричиненому хімічними речовинами [6].

Очі загиблих тварин (великої рогатої худоби та очі курчат) використовуються для оцінки серйозних пошкоджень очей. Пошкодження може бути оцінено шляхом кількісного вимірювання змін помутніння (тобто вимірюється кількість світла, яке пропускає рогівка), проникності (оцінюється кількість флуоресцеїнового фарбника, який проходить крізь всю товщу роги), визначення набряку роги, помутніння роги та патогістологічного дослідження [7, 8].

Натепер EURL ECVAM затверджено ряд клітинних моделей, які можуть бути використані в протоколах оцінки косметичних засобів. Клітинна

лінія фібробластів миші (Balb/c 3T3) використовується для оцінки фототоксичності (OECD 432 — тест на фототоксичність *in vitro* 3T3 NRU) і гострої токсичності (OECD 129 — тест для вибору початкових доз пероральної токсичності в дослідженні системної токсичності), клітинні лінії гістоцитарної лімфоми (U937) і моноцитарного лейкозу людини (THP-1) — для оцінки сенсibilізації шкіри (OECD 442 E — аналіз сенсibilізації шкіри *in vitro*).

Фототоксичність визначається як токсична реакція, що виникає місцево чи системно внаслідок впливу фотореактивних хімічних речовин під дією світла навколишнього середовища. Тест на фототоксичність *in vitro* 3T3 NRU заснований на порівнянні цитотоксичності хімічної речовини при тестуванні в присутності та відсутності впливу нецитотоксичної дози сонячного світла, що імітується з використанням клітин Balb/c 3T3. Цитотоксичність у цьому тесті виражається в зниженні поглинання вітального барвника нейтрального червоного після обробки досліджуваною хімічною речовиною та опроміненням [9].

Метод на визначення гострої токсичності — це підхід, який оцінює поглинання барвника нейтрального червоного клітинами Balb/c 3T3 у присутності досліджуваної хімічної речовини. Метод використовується для визначення початкових доз випробувань на гостру пероральну токсичність і дозволяє скоротити кількість тварин, необхідних для проведення досліджень (з 6 до 3). Даний метод може бути прийнятним для оцінки речовин, які діють виключно через базальну цитотоксичність і не потребують будь-якої активації чи трансформації до того, як проявити свою токсичну дію. Враховуючи те, що даний метод дозволяє лише зменшити кількість тварин в експерименті, його доцільно розглядати в комбінації з іншими даними та інформацією, отриманою від використання методів *in silico* [10].

Варто зазначити, що окрім гострої токсичності оцінка системної дії косметичних засобів передбачає наявність даних щодо канцерогенності, ембріональної токсичності, вплив на ендокринні органи, оцінки повторних доз, втім альтернативні моделі тестування даних показників наразі відсутні.

Натепер повна заміна тестування на тваринах з метою оцінки сенсibilізації шкіри вимагає стратегій тестування, що поєднують у собі кілька методів, а саме: поєднання методів *in chemico*, *in vitro* та *in silico*. Сьогодні неясно, скільки різних ключових подій у механізмі сенсibilізації має бути розгляну-

то. Одна з ключових подій у сенсibilізації шкіри стосується активації дендритних клітин, що супроводжується експресією специфічних маркерів клітинної поверхні — CD86 та CD54. Відомо, що CD86 є ко-стимулюючою молекулою, яка може імітувати активацію моноцитів, що відіграє важливу роль у праймінгу Т-клітин.

У методах з використанням клітин гістіоцитарної лімфоми (U937 Cell Line Activation Test, U-SENS™) та моноцитарної лейкемії людини (human Cell Line Activation Test, h-CLAT) моделюється активація дендритних клітин при дії тестових хімічних речовин. Подібно до дендритних клітин, при контакті з сенсibilізаторами, клітини гістіоцитарної лімфоми (U-SENS) та моноцитарної лейкемії людини (h-CLAT) активуються та збільшують експресію поверхневих маркерів, яка вимірюється за допомогою методу проточної цитометрії після фарбування клітин флуорохромними міченими антитілами. Обмеженням обох методів є тестування флуорисцентних речовин, які впливають на детекцію при проточній цитометрії та використання речовин, які порушують клітинну мембрану, як приклад, поверхнево-активні речовини можуть призвести до хибно позитивних результатів [11, 13, 15].

Показник MoS хімічних речовин в основному розраховується на основі досліджень пероральної токсичності, якщо відсутні надійні дані щодо дермальної токсичності. Оцінка MoS проводиться з використанням точок виникнення ефекту (Points of Departure, POD) та дози системного впливу (Systemic Exposure Dose, SED). У токсикології POD — це три точки на визначеній в експерименті кривій «доза-ефект»: 1) NOAEL; 2) мінімальний рівень доз, при яких спостерігаються токсичні ефекти (Lowest Observed Adverse Effect Level, LOAEL); 3) статистична контрольна доза (benchmark dose, BMD) [16].

Якщо на підставі наявних даних неможливо визначити BMD або NOAEL, то при розрахунку MoS можуть бути використані дані LOAEL.

Для оцінки MoS косметичних засобів керівництво SCCS (10 видання) вводить поняття PODsys. PODsys представляє собою дозу системного впливу речовини, яка розраховується на основі пероральної POD (BMD, NOAEL або LOAEL) з використанням частки речовини, яка поглинається системою.

Тобто, PODsys може відповідати пероральному NOAEL тільки тоді, коли є інформація, що шлунково-кишкове всмоктування становить 100 %.

Для більшості речовин і за умовчанням, коли абсорбція досліджуваної речовини є невідомою, пероральна біодоступність становить лише 50 %, тому для отримання PODsys — NOAEL потрібно розділити на 2.

Якщо є інформація, яка свідчить про погану пероральну біодоступність (наприклад, погана розчинність частинок), то можливе використання 10 % пероральної абсорбції за умовчанням.

Для оцінки дози системного впливу, тобто SED, керівництво SCCS (10 видання) надає 2 способи розрахунку. Перший спосіб ґрунтується на абсолютній кількості біодоступної речовини (мкг/см²) після певного періоду часу, виходячи з найвищої передбачуваної концентрації. У цьому випадку для оцінки системної доступності речовини необхідно знати стандартне значення площі поверхні шкіри (SSA) для кожного типу продукту (дані наведені в додатку 3 керівництва SCCS, 10 видання). Другий спосіб оцінки базується на відсотку, поглиненому дермально. Це залежить від кількості готового продукту, нанесеного на шкіру. Формули розрахунку наведено в таблиці 2.

Значення MoS за умовчанням 100 є загальноприйнятим. Тому розрахований MoS не менше 100

Таблиця 2

Способи оцінки ступеня безпечності

Спосіб 1	Спосіб 2
$SED = DA_a \cdot 10^{-3} \cdot SSA \cdot f / bw$ SED: доза системного впливу (мг/кг маси тіла/добу) DA_a : шкірне всмоктування (мкг/см ²) SSA: поверхня шкіри, яка, як очікується, буде контактувати з косметичним продуктом (см ²) f : частота застосування продукту (день ⁻¹) bw : маса тіла (за замовчуванням 60 кг)	$SED = E_{product} \cdot C / 100 \cdot DA_p / 100$ $E_{product} = qx \cdot F_{ret}$ qx : кількість продукту, що наноситься щодня F_{ret} : коефіцієнт утримання C : концентрація речовини в готовому продукті (%) DA_p : Поглинання шкірою, виражене у відсотках від тестової дози, яку передбачається застосовувати в реальних умовах (%)

Примітка. $E_{product}$ — розрахункова експозиція косметичного продукту на 1 кг ваги тіла, виходячи з нанесеної кількості та частоти застосування (мг/кг маси тіла/добу) [17].

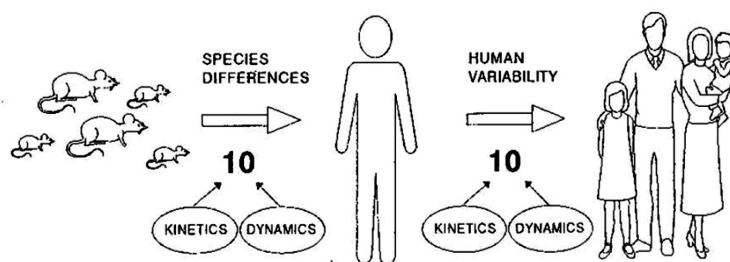


Рисунок. Схематичне представлення екстраполяції від тварин до людини

означає, що косметичний інгредієнт безпечний для використання.

Значення Mos 100 складається з коефіцієнта 10 — для екстраполяції від піддослідних тварин до людини (міжвидова екстраполяція) та ще одного коефіцієнта 10, що враховує варіації в людській популяції (внутрішньовидова екстраполяція) (рисунок) [17].

З метою заповнення пробілів у даних у випадках, коли дослідження *in vitro* не надають необхідної інформації через відсутність затвердженого альтернативного методу та відсутні дані по дослідженням *in vivo* для оцінки ступеня безпечності, доцільно використання методів *in silico*.

Доступність високоякісних баз даних хімічних властивостей/ефектів, потужні алгоритми пошуку даних і зростаюча обчислювальна потужність за останні десятиліття призвели до появи більш універсальних і надійних інструментів і систем для моделювання токсичності. Методи *in silico*, засновані на моделюванні взаємозв'язку структура-активність (Structure-activity relationship, SAR), пропонують альтернативний підхід оцінки токсичності хімічних речовин без експериментальних даних. Дані методи набули особливого значення, оскільки вони пропонують швидко, економічно ефективно та етично альтернативу випробуванню хімічної токсичності на тваринах. Комп'ютерний прогноз токсичності хімічних сполук почав розвиватися в 1980 роках. Цьому сприяла висока вартість експериментальних досліджень з токсикології, соціальний рух на захист тварин і значне число хімічних сполук не тільки для скринінгу, але й для більш поглибленого вивчення. В основі комп'ютерного прогнозу токсичності лежать фундаментальні дослідження, які дозволяють описати можливі співвідношення між хімічними та токсичними властивостями [18]. До основних методів *in silico*, які застосовуються для оцінки токсичності косметичного продукту та рекомендовані керівни-

цтвами SCCS, відноситься QSAR і метод групування хімічних речовин з перехресним зчитуванням (Read-across) [17, 19].

Обидва методи засновані за принципом подібності, тобто схожі молекули мають подібні якості, а біологічна активність визначається молекулярною структурою. QSAR методи є статистичними за своєю природою, оскільки вони намагаються співвіднести молекулярні дескриптори хімічних речовин з їхніми властивостями. Крім того, ці методи є глобальними за своїм охопленням — вони будують моделі для всіх хімічних речовин у визначеному наборі даних і роблять прогнози для широкого кола хімічних речовин у межах області застосування [20].

Read-across є, можливо, найпростішим з *in silico* підходів для заповнення прогалів у токсикологічних даних про косметичні інгредієнти. Даний метод заснований на передумові, що аналогічні сполуки матимуть схожі властивості та активність; отже, токсичність однієї молекули можливо інтерполювати на іншу [21]. Цей підхід є локальним, оскільки його прогнози ґрунтуються на властивостях невеликого набору подібних хімічних речовин. Подібність може бути заснована на загальних функціональних групах, способах чи механізмах дії, хімічних класах тощо. Іншими словами, це метод, що дозволяє передбачити невідомі властивості хімічних речовин, що становлять інтерес, на основі відомих властивостей хімічних речовин в одній і тій самій хімічній групі [20]. QSAR — це загальні моделі, для яких детальне знання про властивість може бути не таким явним і докладним, як для Read-across. Методи Read-across часто фокусуються на конкретних хімічних речовинах, інформація, яку вони надають, може включати дані, які не враховуються в моделях QSAR (наприклад, дані щодо органів-мішеней, механізму дії тощо). З іншого боку, моделі QSAR можуть використовувати чітко визначені параметри (наприклад, полярність, розчинність, наявність певного активного фрагмента),

і таким чином складати загальну наукову основу для прогнозування [19].

Методи QSAR і Read-across реалізовані у вільно поширюваних програмних платформах, таких як QSAR ToolBox, VEGA QSAR, Benigni/Bossa rulebase, Hazard Evaluation Support System Integrated Platform, Toxmatch та ToxRead.

Висновки

1. Оцінка безпечності косметичних засобів передбачає аналіз значної кількості даних, отриманих як шляхом експериментальних досліджень, так і

з залученням не експериментальних методів дослідження (методи *in silico*).

2. Альтернативні методи тестування косметичних засобів, які наразі використовуються країнами ЄС, не задовольняють потреби у визначенні всіх необхідних токсикологічних показників (гостра токсичність, ембріональна токсичність, вплив на ендокринні органи, канцерогенність, дослідження повторних доз).
3. Методи комп'ютерного моделювання є вагомим складовою оцінки безпечності косметичних засобів за умови відсутності експериментальних даних у рамках багаторівневої стратегії тестування.

Література

1. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 431: In Vitro Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (RhE) Test Method. 2019.
2. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 439: In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. 2021.
3. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 435: In Vitro Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion. 2015.
4. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 492: Reconstructed Human Cornea-Like Epithelium (Rhce) Test Method For Identifying Chemicals Not Requiring Classification And Labelling For Eye Irritation Or Serious Eye Damage. 2019.
5. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 491: Short Time Exposure In Vitro Test Method For Eye Hazard Potential. 2020.
6. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 460: Fluorescein Leakage Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants. 2017.
7. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 437: Bovine Corneal Opacity And Permeability Test Method For Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage And ii) Chemicals Not Requiring Classification For Eye Irritation Or Serious Eye Damage. 2020.
8. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 438: Isolated chicken eye test method for identifying I) chemicals inducing serious eye

damage and II) chemicals not requiring classification for eye irritation or serious eye damage. 2018.

9. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test. 2019.

10. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 129: Guidance document on using cytotoxicity test to estimate starting doses for acute oral systemic toxicity tests. 2010.

11. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 442E: In Vitro Skin Sensitisation: In Vitro Skin Sensitisation Assays Addressing the Key Event on Activation of Dendritic Cells on the Adverse Outcome Pathways for Skin Sensitisation. 2018.

12. Ex vivo live full-thickness porcine skin model as a versatile *in vitro* testing method for skin barrier research. J. H. Hwang, H. Jeong, N. Lee et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, No. 2. P. 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms22020657>.

13. Eskes C., Vliet E., Maibach H. I. Alternatives for dermal toxicity testing. Springer International Publishing. 2017. 592 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50353-0_43.

14. Wilson S. L., Ahearne M., Hopkinson A. An overview of current techniques for ocular toxicity testing. *Toxicology*. 2015. Vol. 327. P. 32–46. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.11.003>.

15. Current opinion on risk assessment of cosmetics. K. Kim, S. J. Kwack, J. Y. Lee et al. *Journal of Toxicology and Environmental Health – Part B: Critical Reviews*. 2021. Vol. 24, No. 4. P. 137–161. <https://doi.org/10.1080/10937404.2021.1907264>.

16. Всемирная организация здравоохранения. Оценка риска комбинированного воздействия химических веществ. A. R. Boobis, K. M. Crofton, G. Heinemeyer et al. 2015. 36 с.

17. Scientific Committee on Consumer Safety SCCS. The SCCS note of Guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation – 10th Revision. 2018.

18. Бобкова Л. С., Чекман І. С., Яворовський О. П. Застосування методу QSAR в токсикології. *Современные проблемы токсикологии*. 2008. № 2. С. 78–86.

19. Integrating *in silico* models and read-across methods for predicting toxicity of chemicals: A step-wise strategy. E. Benfenati, Q. Chaudhry, G. Gini et al. *Environment International*. 2019. Vol. 131, No. 4. P. 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105060>.

20. *In silico* identification of protein targets for chemical neurotoxins using ToxCast *in vitro* data and read-across within the QSAR toolbox. Y. G. Chushak, H. W. Shows, J. M. Gearhart et al. *Toxicology Research*. 2018. Vol. 7, No. 3. P. 423–431. <https://doi.org/10.1039/C7TX00268H>.

21. The way forward for assessing the human health safety of cosmetics in the EU – Workshop proceedings. V. Rogiers, E. Benfenati, U. Bernauer et al. *Toxicology*. 2020. Vol. 436. P. 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152421>.

Яструб Т. А., Прыгунова В. В., Худенко Н. В., Донцова Д. А., Григорьева К. В., Коваленко В. Ф.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ МЕТОДОЛОГИИ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Государственное учреждение «Институт медицины труда имени Ю. И. Кундиева Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Вступление. С июля 2013 года в странах Европейского Союза (ЕС) вступил в силу запрет тестирования косметической продукции на животных, который поддержали ряд стран мира, в том числе и Украина. Наряду с этим актуальна проблематика внедрения альтернативных методов тестирования косметической продукции, определения конечных токсикологических точек и стратегий тестирования новых ингредиентов. В статье приведен практический обзор методов оценки безопасности косметической продукции с учетом современных подходов, используемых на территории ЕС.

Цель исследования — аналитический обзор современных методов оценки безопасности косметических средств.

Материалы и методы исследования. Исследование построено на анализе отечественных и зарубежных изданий, действующих нормативно-правовых актов и руководящих документов международных организаций, регулирующих оборот косметических средств.

Результаты. Оценка безопасности косметической продукции предполагает использование различных подходов, включая данные тестирования с использованием животных (*in vivo*), проведенных до 2013 года, методы с использованием клеточных линий и тканей (*in vitro*) и методы компьютерного моделирования (*in silico*). Повреждающее действие косметических средств на кожу чаще всего оценивается с использованием трехмерных моделей искусственной кожи, а повреждающее действие на глаза исследуется как методами клеточного анализа, так и с использованием глаз погибших животных. Наряду с этим имеющиеся альтернативные методы не удовлетворяют потребности в оценке всех токсикологических показателей (острой токсичности, эмбриональной токсичности, эндокринной токсичности, канцерогенности, оценке повторных доз). В таких условиях особую актуальность приобретают методы компьютерного моделирования.

Выводы. Оценка безопасности косметической продукции требует тщательного планирования и разработки стратегий тестирования, включающих поиск имеющейся информации о тестированиях, проведенных на животных, применение альтернативных моделей *in vitro* и привлечение методов *in silico*.

Ключевые слова: косметическая продукция, оценка безопасности, альтернативные методы, методы компьютерного моделирования

Yastrub T. O., Prygunova V. V., Khudenko N. V., Dontsova D. O., Hrygorieva K. V., Kovalenko V. F.

ANALYTICAL ISSUES OF COSMETIC SAFETY ASSESSMENT METHODOLOGY (LITERATURE REVIEW)

State Institution «Kundiiev Institute of Occupational Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Introduction. Since July 2013 in the European Union (EU) came into force a ban on testing cosmetic products on animals, this ban is supported by a number of countries in the world, including Ukraine. Along with this, the problem of introducing alternative methods of testing cosmetic products, determining the toxicological endpoints and testing strategies for new ingredients is relevant. The article provides a practical overview of methods for assessing the safety of cosmetic products, taking into account the current approaches used in the EU.

The aim of the study — analytical review of modern methods of assessing the safety of cosmetic products.

Materials and methods. The study is based on an analysis of domestic and foreign publications, current regulations and guidance documents of international organizations governing the circulation of cosmetics.

Results. Assessing the safety of cosmetic products involves various approaches, including animal testing data (*in vivo*) conducted before 2013, methods using cell lines and tissues (*in vitro*), and computer simulation methods (*in silico*). The damaging effects of cosmetic products on the skin are most often evaluated using three-dimensional models of artificial skin, and the damaging effects on the eyes are investigated both by methods of cellular analysis and using the eyes of dead animals. At the same time, the available alternative methods do not meet the need to assess all toxicological parameters (acute toxicity, embryonic toxicity, endocrine toxicity, carcinogenicity, and repeated-dose assessment). Under such conditions, computer modeling methods are of particular relevance.

Conclusions. Assessing the safety of cosmetic products requires careful planning and development of testing strategies that include searching for available information on tests performed on animals, using alternative *in vitro* models, and involving *in silico* methods.

Key words: cosmetic products, safety assessment, alternative methods, computer simulation methods

References

1. Organization for Economic Cooperation and Development. (2019), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 431: In Vitro Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (RhE) Test Method.
2. Organization for Economic Cooperation and Development. (2021), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 439: In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method.
3. Organization for Economic Cooperation and Development. (2015), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 435: In Vitro Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion.
4. Organization for Economic Cooperation and Development. (2019), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 492: Reconstructed Human Cornea-Like Epithelium (Rhce) Test Method For Identifying Chemicals Not Requiring Classification And Labelling For Eye Irritation Or Serious Eye Damage.
5. Organization for Economic Cooperation and Development. (2020), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 491: Short Time Exposure In Vitro Test Method For Eye Hazard Potential.
6. Organization for Economic Cooperation and Development. (2017), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 460: Fluorescein Leakage Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants.
7. Organization for Economic Cooperation and Development. (2020), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 437: Bovine Corneal Opacity And Permeability Test Method For Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage And ii) Chemicals Not Requiring Classification For Eye Irritation Or Serious Eye Damage.
8. Organization for Economic Cooperation and Development. (2018), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 438: Isolated chicken eye test method for identifying I) chemicals inducing serious eye damage and II) chemicals not requiring classification for eye irritation or serious eye damage.
9. Organization for Economic Cooperation and Development. (2019), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test.
10. Organization for Economic Cooperation and Development. (2010), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 129: Guidance document on using cytotoxicity test to estimate starting doses for acute oral systemic toxicity tests.
11. Organization for Economic Cooperation and Development. (2018), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 442E: In Vitro Skin Sensitisation: In Vitro Skin Sensitisation Assays Addressing the Key Event on Activation of Dendritic Cells on the Adverse Outcome Pathways for Skin Sensitisation.
12. Hwang, J. H., Jeong, H., Lee, N. et al. (2021), «Ex vivo live full-thickness porcine skin model as a versatile *in vitro* testing method for skin barrier research», *International Journal of Molecular Sciences*, No. 22, pp. 1–16, <https://doi.org/10.3390/ijms22020657>.
13. Eskes, C., Vliet, E., Maibach, H. I. (2017), «Alternatives for dermal toxicity testing. Springer International Publishing», 592 p., https://doi.org/10.1007/978-3-319-50353-0_43.
14. Wilson, S. L., Ahearne, M., Hopkinson, A. (2015), «An overview of current techniques for ocular toxicity testing», *Toxicology*, No. 327, pp. 32–46, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.11.003>.
15. Kim, K., Kwack, S. J., Lee, J. Y. et al. (2021), «Current opinion on risk assessment of cosmetics», *Journal of Toxicology and Environmental Health – Part B: Critical Reviews*, No. 24, pp. 137–161, <https://doi.org/10.1080/10937404.2021.1907264>.
16. Boobis, A. R., Crofton, K. M., Heinemeyer, G. et al. (2015), World Health Organization, «Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals», 36 p.
17. Scientific Committee on Consumer Safety SCCS. The SCCS note of Guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation – 10th Revision. (2018).
18. Bobkova, L. S., Chekman, I. S., Yavorovski, A. P. (2008), «Use of QSAR in toxicology» [«Zastosuvannya

методу qsar v toksykolohii»], *Sovremennyye problemy toksykologiyi*, No. 2, pp. 78–86.

19. Benfenati, E., Chaudhry, Q., Gini, G. et al. (2019), «Integrating *in silico* models and read-across methods for predicting toxicity of chemicals: A step-wise strategy», *Environment International*, No. 131 (4), pp. 1–15, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105060>.

20. Chushak, Y. G., Shows, H. W., Gearhart, J. M. et al. (2018), «*In silico* identification of protein targets for

chemical neurotoxins using ToxCast *in vitro* data and read-across within the QSAR toolbox», *Toxicology Research*, No. 7, pp. 423–431, <https://doi.org/10.1039/C7TX00268H>.

21. Rogiers, V., Benfenati, E., Bernauer, U. et al. (2020), «The way forward for assessing the human health safety of cosmetics in the EU – Workshop proceedings», *Toxicology*, No. 436, pp. 1–14, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152421>.

ORCID ID співавторів та їхній внесок у підготовку та написання статті:

Яструб Т. О. (ORCID ID 0000-0002-5084-3773) – ідея дослідження, визначення актуальності, формування концепції, розробка плану та мети дослідження, узагальнення висновків;

Пригунова В. В. (ORCID ID 0000-0002-4143-488X) – збір даних літератури, написання окремих розділів статті; Худенко Н. В. (ORCID ID 0000-0003-3460-9511) – участь у формуванні висновків, написання та оформлення статті;

Донцова Д. О. (ORCID ID 0000-0003-3676-1672) – збір даних літератури, підготовка статті до друку;

Григор'єва К. В. (ORCID ID 0000-0001-8532-1265) – інтерпретація даних літератури, оформлення та підготовка статті до друку;

Коваленко В. Ф. (ORCID ID 0000-0003-1157-3560) – аналіз та узагальнення отриманих даних.

Надійшла: 29 жовтня 2021 р.

Прийнята до друку: 24 листопада 2021 р.

Контактна особа: Яструб Тетяна Олександрівна, лабораторія токсикології пестицидів та гігієни праці при їх застосуванні, ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМНУ», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: + 38 0 44 289 42 74.