

DOI 10.24144/2077-6594.4.1.2021.247000
УДК 613.495:001.891.5

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

Впровадження в Україні альтернативних методів тестування косметичної продукції: можливості та виклики сьогодення

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

tatyanayastrub@gmail.com

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

Внедрение в Украине альтернативных методов тестирования косметической продукции: возможности и вызовы сегодняшнего дня

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

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

Introduction of alternative methods of testing cosmetic products in Ukraine: opportunities and challenges of today

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

Вступ

Косметична продукція повинна бути безпечною для здоров'я людини і на практиці рідко асоціюється з серйозною небезпекою, що, однак, не виключає ймовірність її негативного впливу. Особливу увагу варто приділяти довгостроковим аспектам безпечності, оскільки косметичні засоби широко використовуються протягом більшої частини життя людини і можуть стосуватись чутливих груп населення, таких як діти, люди похилого віку і вагітні жінки. Саме тому оцінка безпечності косметичних засобів підлягає суворому регулюванню та контролю в усіх країнах світу. В країнах Європи окремо контролюється кожний інгредієнт косметичного засобу, а для тих речовин, щодо яких існують певні побоювання (наприклад барвники, консерванти, УФ-фільтри), оцінка безпечності проводиться на рівні Європейської комісії (ЄК) та Наукового комітету з безпеки споживачів (SCCS). Одним із зобов'язків SCCS – рекомендувати набір керівних принципів, які повинні бути прийняті до уваги при оцінці безпеки косметичних продуктів та їх інгредієнтів [1].

Директива ЄС76/768/ЄЕС «Безпечність та якість косметичної продукції» стала основоположним документом для поступової заборони тестування готової косметичної продукції та її інгредієнтів на тваринах у країнах Європейського Союзу (ЄС). Ця Директива неодноразово зазнавала змін. Так, у 1993 році вперше була прийнята поправка щодо заборони продажу нової косметичної продукції, яка проходила тестування на тваринах; у 2009 році – заборона тестування косметичної продукції та її інгредієнтів на тваринах, однак, через відсутність альтернативних методів, повна заборона тестування вступила в силу лише в 2013 році. У липні 2013 року Регламент Європейського парламенту та Ради

ЄС № 1223/2009 від 30 листопада 2009 року «Про косметичні засоби» (Регламент ЄС) повністю замінив Директиву ЄС76/768/ЄЕС та заборонив рекламувати, продавати готову косметичну продукцію та її інгредієнти, що тестувались на тваринах, як на території ЄС так і за його межами. На сьогодні ряд країн світу – Ізраїль, Норвегія, Індія, Нова Зеландія, Тайвань, Південна Корея, Туреччина, Швейцарія, Гватемала і шість штатів Бразилії, заборонили або обмежили тестування косметики на тваринах. Аналогічні правові заходи були запропоновані і знаходяться на стадії обговорення в ряді інших країн, включаючи США, Канаду, Австралію та Південну Африку [2]. До даної ініціативи планує долучитись і Україна. Поряд з цим проблематика впровадження альтернативних методів тестування косметичної продукції лишається актуальною.

Дослідження на тваринах є невід'ємною складовою токсикологічних експериментів для оцінки ступеня токсичності різних хімічних сполук, в тому числі лікарських засобів. Однак, такі дослідження все більше зазнають критики як зі сторони самих дослідників, так і організацій, які борються за права тварин та етичне поводження з ними. Так, у 1950 році W.Russel та R.Birch вперше сформулювали концепцію «тріох R» –Replacement, Reductionand, Refinement – заміни, скорочення та удосконалення при використанні тварин у наукових дослідженнях.

Replacement (заміна): використання методів, таких як клітинні культури (моделі in vitro), люди-добровольці і комп'ютерне моделювання (in silico) або їх поєднання замість тварин для досягнення наукової мети.

Reduction (скорочення): використання методів, які дозволяють дослідникам отримувати співставні обсяги інформації від меншої кількості тварин або більше інформації від тієї ж самої кількості тварин.

Refinement (удосконалення): використання методів, які полегшують або мінімізують потенційний біль, страждання або дистрес, і які покращують добробут тварин, які не можуть бути замінені.

Окрім цього, умови утримання тварин, спосіб поводження з ними може суттєво вплинути на їх фізіологію і поведінку, та, як наслідок – на достовірність і відтворюваність будь-яких отриманих результатів. Саме тому, зведення до мінімуму досліджень на тваринах надзвичайно важливо як для самих тварин, так і для науки вцілому, а впровадження альтернативних методів тестування з кожним роком набуває все більшої популярності [3-5].

Мета дослідження – аналіз існуючих альтернативних методів тестування косметичної продукції та оцінка можливості їх використання в Україні.

Матеріали та методи

При виконанні роботи були проаналізовані публікації вітчизняних та зарубіжних видань та керівні документи міжнародних організацій, які використовуються для тестування косметичної продукції.

Результати дослідження та їх обговорення

Ключову роль в розробці, валідації та визнанні альтернативних методів в ЄС відіграє Європейський Центр з валідації альтернативних методів (ECVAM). ECVAM заснований у 1991 році. У 2010 році його роль

була розширена і чітко закріплена в законодавстві, а саме – в Директиві 2010/63/EU про захист тварин, що використовуються в наукових цілях. У зв'язку з цим ECVAM була призначена референтною лабораторією ЄС з альтернативних випробувань на тваринах, з новою аббревіатурою EURL ECVAM [6]. Аналогічною організацією в Сполучених Штатах Америки є ICCVAM, в Японії – JaCVAM, Кореї – KoCVAM.

Технічний регламент (далі – Регламент) на косметичну продукцію, який в Україні повинен вступити в силу з 2022 року, розроблений на основі Регламенту ЄС.

Згідно Регламенту, експерт, який оцінює безпечність косметичної продукції, повинен надати токсикологічний профіль речовин, що містяться в косметичних продуктах та мають відповідні токсикологічні показники. Особлива увага приділяється оцінці місцевої дії (подрознення шкіри та очей, сенсibiлізація шкіри) та, за необхідності – оцінці фототоксичності. Відповідно до Регламенту оцінка місцевої токсичності здійснюється лише з використанням альтернативних методів.

В країнах ЄС використовуються альтернативні методи тестування косметичної продукції та її інгредієнтів, які затверджені EURL ECVAM та рекомендовані керівництвами організації економічної співпраці та розвитку (OECD). Керівництвами OECD рекомендовані альтернативні методи оцінки як місцевої дії хімічних речовин на шкіру та очі, так і токсикологічних показників (табл. 1).

Таблиця 1. Перелік альтернативних методів тестування речовин, які мають вплив на шкіру

Метод дослідження	Керівництво OECD
Подрознення шкіри in vitro: метод дослідження на реконструйованому людському епідермісі	OECD TG 439
Корозія шкіри	OECD TG 430, OECD TG 431, OECD TG 435
Сенсibiлізація шкіри	OECD TG 442C, OECD TG 442D, OECD TG 442E
Фототоксичність	OECD TG 432
Абсорбція шкіри	OECD TG 428

Аналіз валідаційних досліджень альтернативного методу подразнення шкіри був розпочатий EURL ECVAM з 2003 року, у 2007 року були схвалені моделі EpiSkin™ та EpiDerm™ SCT для заміни тесту in vivo (OECD TG 404), а згодом впроваджене керівництво OECD 439 (метод тестування на подразнення шкіри), стандарти ефективності до якого виведені в окремий документ OECD GD 220. Визначення корозійного потенціалу хімічних речовин проводиться у відповідності до OECD 439 як самостійного тесту або в комбінації з методом дослідження мембранного бар'єру in vitro на корозію шкіри (OECD TG 435) з використанням комерційно доступної штучної мембрани Corrositex®, який був рекомендований OECD як частина багаторівневої стратегії досліджень в оцінці потенціалу дермальної корозії небезпечних хімічних речовин. На даний час ряд моделей тривимірної шкіри (EpiSkin™, EpiDerm™ SCT,

SkinEthic™, LabCyt EPI та epiCS®) офіційно затверджені в керівництвах OECD 439 (подрознення шкіри) та OECD 431 (корозія шкіри) [7].

Предметом високої уваги дослідників косметичних засобів є тривимірні моделі людської шкіри, оскільки вони імітують функцію реальної людської шкіри in vivo, мають повністю диференційований епідерміс, а наявність рогового шару на межі розділу повітря-рідина дозволяє місцеве застосування як водних, так і масляних розчинів та кінцевих косметичних складів. Однак, ці моделі мають деякі властиві їм обмеження, такі як порушення бар'єрної функції через неповне дозрівання рогового шару, відсутність фібробластів, імунних клітин та нервових закінчень. Також дані моделі часто вимагають тривалих процедур культивування з використанням дороговартісних середовищ, що в сукупності визначає їх досить високу вартість [8].

Варто відзначити, що орієнтовна ціна вищезгаданих моделей складає близько 1000\$ за упаковку із 12 шматочків (орієнтовна ціна виробника). Зважаючи на те, що на сьогодні в Україні не налагоджені поставки тривимірних моделей штучної шкіри та беручи до уваги їх потенційно високу вартість та витрати на логістику, питання щодо можливості їх використання на території України залишається відкритим.

Через високу ціну тривимірних моделей в багатьох країнах світу проводяться спроби валідувати власні моделі штучної шкіри [9-10] або затвердити інші альтернативні методи тестування.

Поряд з моделями штучної шкіри як альтернативний метод оцінки токсичності вже використовується короткочасна суспензійна культура клітин сперматозоїдів бика. Даний метод застосовується для: шампунів для волосся і тіла; рідкого туалетного мила; піни для ванн; гелю для душу; дезодорантів і депіляторів в аерозольній упаковці; туалетної та парфумованої вод, духів, одеколонів, спиртовмісних лосьйонів (Методичні рекомендації № 29 ФЦ/39 від 29.01.2002 р.) [11].

В окремих роботах зазначалось про подібність шкіри свині до людської шкіри, як з гістологічної, так і з фізіологічної точки зору. Так, товщина шкіри свині складає 21-26 мкм, що співставно з людською шкірою; фолікулярна структура, анатомія судин та розташування колагенових волокон шкіри свині подібні з людською шкірою. Також зазначалось про подібність фізіологічних процесів, таких як регенерація ран. Серед переваг такої моделі – можливість контролювати вік тварин та вибирати ділянки для біопсії, що дуже важливо для забезпечення відтворюваності [8,12]. Шкіру свині також можна вважати схожою з людською в плані метаболізму, оскільки і та, і інша експресують ферменти фази I, включаючи цитохром P450 [13-15].

Для дослідження можливості розвитку контактних дерматитів на косметичну продукцію широко використовуються пластинні тести на добровольцях – Patch-test. Патч-тестування є важливим методом діагностики алергічних контактних дерматитів та може виявити достовірні алергени майже в 70-80% випадків контактного дерматиту [16].

Проникність хімічних речовин крізь шкіру може сильно відрізнятись як у різних видів тварин так і у клітинних моделей по відношенню до людської шкіри.

Так, у роботі [17] було показано, що проникність кофеїну через модель шкіри відтвореного людського епідермісу може бути у 20-25 разів вищою ніж у нормальної шкіри людини, що пов'язано з особливістю дозрівання рогового шару. При дослідженні моделей EpiSkin, SkinEthic та EpiDerm [18] також зазначалось про підвищену проникність даних моделей, що може призвести до хибно позитивних результатів в дослідженнях абсорбції. У дослідженнях фототоксичності повідомлялось про хибнопозитивні результати, проведені на кролях, у порівнянні з шкірно-аплікаційним тестом (human photopatch test), проведеним на людях [19]. Варто зазначити, що сучасні косметичні склади можуть містити інгредієнти, які діють тільки в тому випадку, якщо вони проникають в роговий шар або більш глибокі шари епідермісу, і, використовувана альтернативна модель має забезпечувати, щоб окремий інгредієнт дійсно потрапив в необхідні шари шкіри. Зрештою, хоч тривимірні моделі вважаються найбільш наближеними до шкіри людини, вибір альтернативного методу тестування є непростим завданням і може залежати від конкретних цілей дослідження [15].

Окрім безпечності щодо впливу на шкіру, косметичні засоби повинні продемонструвати безпечність щодо їх впливу на очі. Традиційно подразнення очей досліджувалось з використанням тварин, переважно кролів. Однак, методологія не була послідовною, поки в 1944 році токсиколог J.H. Draize не опублікував стандартизований метод, який згодом став широко використовуватися як очний тест Дрейза. Очний тест Дрейза був прийнятий OECD в 1981 році як керівництво по тестуванню TG 405, проте, постійно піддавався критиці через інвазивність та жорстокість процедури. У зв'язку з цим, вже в 1980-1990-х роках були проведені широкомасштабні дослідження для пошуку альтернативного методу, хоч і було визнано, що напевно чи очний тест Дрейза можна замінити одним тестом *in vitro*. Особливої уваги набули тести, які не вимагали використання живих тварин, але використовували роги тваринного походження (бичачі, кролячі і курячі), які були вилучені з тварин посмертно, та не розглядалися юридичними органами як експерименти на тваринах [20-22]. На даний час OECD затверджено п'ять методів випробувань для класифікації хімічних речовин, які викликають важкі пошкодження очей (табл. 2).

Таблиця 2. Перелік альтернативних методів тестування речовин, які мають вплив на очі

Метод дослідження	Керівництво OECD
Методи аналізу з використанням очей загиблих тварин	
Метод оцінки важкого пошкодження очей шляхом дослідження непрозорості та проникності бичачої роги	OECD TG 437
Метод оцінки серйозного пошкодження очей з використанням ізольованого курячого ока	OECD TG 438
Методи клітинного аналізу	
Оцінка потенціалу небезпечності для очей методом короткочасного впливу	OECD TG 491
Подразнення або пошкодження очей з використанням реконструйованого людського епітелію	OECD TG 492
Метод випробування на витік флуоресцеїну для виявлення очних корозій та сильних подразників	OECD TG 460

Окремої уваги заслуговує питання щодо дослідження токсикологічних шляхів абсорбції та обчислення системної дії.

На даний час EURL ECVAM затверджено декілька керівництв OECD щодо дослідження токсичної дії хімічних речовин (табл. 3).

Таблиця 3. Перелік альтернативних методів токсикологічного дослідження хімічних речовин

Метод дослідження	Керівництво OECD
Гостра токсичність	OECD 129
Генотоксичність	OECD 741, OECD 746, OECD 487, OECD 490
Ендокринна токсичність (керівництва для виявлення агоністів та антагоністів естрогенових рецепторів, трансактивації андрогенового рецептора, стероїдогенез)	OECD 455, OECD 457, OECD 458, OECD 456

Відомо, що дослідження канцерогенності наразі проводяться з використанням клітинних ліній BALB/c 3T3 та ембріональних клітин сирийського хом'ячка [23-28]. Однак офіційно ці методи ще не затверджені. Щодо репродуктивної токсичності ні один аналіз *in vitro* наразі не валідований ECVAM, хоч і були певні досягнення для нормативного визнання трьох типів аналізів: аналіз культури цільного ембріона щура, тест ембріональних стовбурових клітин миші і людини [7]. Не затвердженими залишаються і керівництва щодо тестування повторних доз.

Тривалий час EURL ECVAM прикладає багато зусиль щодо розробки та валідації альтернативних методів дослідження токсикологічних показників, проте наразі відсутні чіткі алгоритми тестування, які могли б повністю оцінити всі токсикологічні кінцеві точки з використанням методів *in vitro* [7]. На сьогодні відомо ряд баз даних, які надають інформацію про хімічні та токсикологічні характеристики речовин, найпоширенішими з них є бази даних: CIR (Cosmetic Ingredient Review), HSDB (Hazardous Substances Data Bank), RTECS (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances), EnviChem та інші. Втім, при відсутності інформації по вищезгаданим кінцевим точкам інтерпретація результатів значно ускладнюється.

Поряд з цим, згідно Регламенту експерт з косметичної продукції повинен оцінити ступінь безпечності MoS (The Margin of Safety), який розраховується з використанням показників NOAEL (No-Observed-Adverse-Effect-Level) та SED (The Systemic Exposure Dosage). NOAEL – максимальна доза інгредієнта (мг/кг маси тіла на добу), при якій не спостерігаються шкодуючі ефекти. Для косметичних інгредієнтів NOAEL отриманий переважно в результаті 90-денного спостереження на тваринах повторної дози або дослідження репродуктивної токсичності. Разом з цим повідомлялось про неузгодженість розрахунку даного показника в різних країнах світу, що пов'язано з різними методами визначення повторних доз та невизначеність у розрахунку NOAEL для УФ-фільтрів. Показник SED визначає дозу системної дії за результатами дослідження дермального поглинання *in vitro*. Коефіцієнт MoS розраховується для кожної речовини, яка входить до складу косметичного засобу. Ступінь безпечності (MoS = NOAEL/SED) не менше 100 свідчить про безпечність досліджуваного інгредієнту [29-30].

Заборона тестування на тваринах та відсутність валідованих методів *in vitro* для повторних доз або досліджень репродуктивної токсичності унеможливають визначення NOAEL та розрахунку MoS для нових косметичних інгредієнтів. Проте, інгредієнти з незначною дермальною біодоступністю не обов'язково потребують визначення повторних доз, оскільки системна токсичність при цьому шляху надходження до організму не є потенційною загрозою [31].

На даний час використовуються дані NOAEL, отримані до введення заборони тестування на тваринах, та, за умови відсутності інформації, порядок оцінки ще належить визначити. Окрім того, в додатках II-VI Регламенту зазначені переліки заборонених або дозволених до використання в косметичній продукції речовини, втім, враховуючи стрімкий розвиток косметичної промисловості, нові інгредієнти можуть бути не включеними до даних переліків, і в таких умовах порядок дій залишається незрозумілим.

Певні складності щодо оцінки може скласти косметична продукція, яка містить трав'яні екстракти, наноматеріали та фарбуючі речовини.

Так, рослинні екстракти можуть містити фармакологічно активні речовини або потенційно токсичні речовини (пестициди, метали), які здатні негативно взаємодіяти з іншими компонентами косметичного засобу. Відомо, що концентрація активних речовин в екстрактах природного походження може сильно варіювати в залежності від технології виробництва, походження сировини тощо. Окрім цього, не в усіх країнах світу законодавчо затверджені методи контролю для забезпечення чистоти та безпечності рослинних компонентів. В деяких країнах рослини не класифікуються як лікарські засоби, і не існує відповідних керівних принципів або нормативних стандартів їх оцінки. Тому наразі наявна лише незначна кількість стандартизованих рослинних екстрактів, а більшість потенційних рослинних алергенів залишаються невизначеними. Підтвердженням цього є збільшення випадків алергічних контактних дерматитів та фототоксичних реакцій у пацієнтів, які застосовували косметичну продукцію, що містить рослинні екстракти. У зв'язку з цим тестування такої косметичної продукції варто проводити не лише з використанням методів *in vitro*, а також із урахуванням даних патч-тестування на людях [33-34].

Наноматеріали роблять вагомий внесок у розвиток косметичної промисловості та мають суттєві переваги перед іншими косметичними інгредієнтами, оскільки, завдяки унікальності своєї хімічної структури, здатні переносити визначені кількості інгредієнтів в необхідні ділянки шкіри. На даний час наноматеріали найчастіше використовуються в косметичці по догляду за шкірою та в сонцезахисних кремах як УФ фільтри. Однак, застосування нанотехнологій викликає побоювання щодо їх безпечності як для людини, так і оточуючого середовища. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВОЗ) та інші світові неурядові організації та агентства виражають стурбованість щодо використання наноматеріалів у споживчих товарах та вживають ряд заходів для забезпечення балансу між безпечністю та інтересами промисловості. На даний час ЄК оновила керівництво по оцінці безпечності наноматеріалів в косметичних продуктах а Управління за продуктами та ліками (FDA, США) розробило власне керівництво для застосування нанотехнологій в споживчих товарах. На початку 2020 року Обсерваторія ЄС з наноматеріалів (EUON), оголосила, що всі компанії, які виробляють, використовують або імпортують наноформи, повинні мати реєстрацію REACH (Регламент ЄС про хімічні речовини та їх безпечне використання). Мета цього заходу полягає в тому, щоб компанії надавали кінцевим користувачам адекватну інформацію про безпечність продукції. Звідси можна зробити висновок, що наноматеріали потребують окремих стандартизованих підходів щодо оцінки їх безпечності і особливо важливих їх нанохарактеристик та шляхів проникнення [35]. Адаптовані методи тестування хімічних речовин не можуть бути повністю застосовуваними для наноматеріалів через їх хімічні властивості та біологічну поведінку. Відсутність нормативних настанов з оцінки безпеки наноматеріалів є серйозною проблемою, а стандарти OECD лиш частково підходять для оцінки наноматеріалів і потребують удосконалення [36-37].

Косметична продукція, до складу якої входять фарбуючі речовини, може змінювати результати тестів на цитотоксичність та потребуватиме додаткових контролей для дослідження при використанні тривимірних моделей штучної шкіри [38].

Загалом, впровадження альтернативних методів тестування – це тривалий, складний та трудомісткий процес, який потребує тісної співпраці як самих виробників косметичної продукції, так і науковців та регуляторних органів. Країни, які підтримали ініціативу ЄС щодо заборони тестування косметичних засобів на тваринах, прийняли заходи по переналаштуванню внутрішнього законодавства до нових умов. Так, в Норвегії існує заборона тестування на тваринах нових косметичних засобів, втім дозволені ті, що вже є на ринку, та деякі фармацевтичні препарати, які використовуються в косметології, наприклад, препарати ботулотоксину. В Ізраїлі заборонений продаж, маркетинг та імпорт всієї косметики та миючих засобів, протестованих на тваринах.

Подібні принципи впроваджує Індія та Туреччина. В Новій Зеландії тестування на тваринах заборонено, втім дозволений імпорт косметики, яка пройшла таке тестування [39]. Заборона тестування на тваринах впроваджена і в Кореї, однак дослідження косметичних засобів на тваринах продовжують проводитись [40].

Введення в Україні нового Регламенту представляє собою серйозний виклик для косметичної промисловості. Так, протоколи досліджень, які широко використовуються в країнах ЄС, не можуть бути просто перекладені та впроваджені до застосування, адже вони потребують гармонізації з діючим законодавством та адаптації до потреб внутрішнього ринку.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням нормативно-правових актів, які регламентують обіг косметичної продукції в Україні та країнах Європейського союзу.

Висновки

1. Альтернативні методи тестування косметичної продукції повинні задовольняти ключові потреби щодо точності отриманих результатів та економічної доступності. При виборі альтернативного методу слід враховувати можливість тестування кінцевих складів косметичних засобів, рослинних екстрактів, наноматеріалів та фарбуючих речовин. На даний час в Україні не налагоджене офіційне постачання як клітинних ліній, так і тривимірних моделей штучної шкіри та моделей роگیвки ока. Дані моделі не виробляються на території України і можуть поставлятися виключно з-за кордону, при цьому, як зазначають виробники даної продукції, умови та тривалість транспортування можуть вплинути на їх якість. Не виключено, що зусиллями українських вчених також вдасться розробити та валідувати власні моделі штучної шкіри та роگیвки ока, втім процес розробки та затвердження потребує часу.

2. Не дивлячись на всі зусилля, направлені на розробку альтернативних методів для оцінки токсикологічних показників, протоколи повної заміни тестуванням на тваринах залишаються не затвердженими та є предметом дискусій як серед науковців всього світу, так і міжнародних організацій.

3. Виходячи з того, що не всі токсикологічні кінцеві точки можуть бути визначені альтернативними методами, оцінка безпечності нових інгредієнтів представляє собою складне завдання, адже для цього можуть бути використані лише дані досліджень на тваринах, які проведені до введення заборони.

4. Для України дослідження методами *in vitro* являються не розповсюдженими та досить дорогавартісними, особливо на початковому етапі їх впровадження. Це, в свою чергу обмежує коло спеціалістів, які мають необхідні навички проведення досліджень як *in vitro*, так і *in silico*.

References

1. Vinardell MP, Montserrat M. Alternative Methods to Animal Testing for the Safety Evaluation of Cosmetic Ingredients: An Overview. *Cosmetics*. 2017; 4 (30): 2-14. doi:10.3390/cosmetics4030030.
2. Kojima H, Seidle T, Spielmann H. Alternatives to Animal Testing: proceedings of Asian Congress. 2016 Springer Singapore; 2019. 130 p. doi:10.1007/978-981-13-2447-5.
3. Trakhtenberg IM, Kovalenko VM, Kokshareva NV et al. Alternatyvni metody i test-systemy. *Likarska toksykologhiia [Alternative Methods and Test-Systems. Medical Toxicology]* Kyiv: Izd-vo Avitsenna; 2008. 272 p.
4. Dmytrukha NM. «Cell culture as an in vitro model in toxicological studies». *Fundamentalni doslidzennya*. 2013; 3: 50-5.
5. Robinson V. Finding alternatives: an overview of the 3Rs and the use of animals in research. *School Science Review*. 2005; 87 (319): 1-4.
6. What in the mandate of EURL ECVAM. <https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/ecvam/faq/general>.
7. Almeida A, Sarmiento B, Rodrigues F. Insights on in vitro models for safety and toxicity assessment of cosmetic ingredients. *Int J Pharm*. 2017; 519 (1-2): 178-85. doi:10.1016/j.ijpharm.2017.01.024.
8. Hwang J, Jeong H, Lee N, Hur S, Lee N, Han J et al. Ex vivo live full-thickness porcine skin model as a versatile in vitro testing method for skin barrier research. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (2): 1-16. doi:10.3390/ijms22020657.
9. Han J, Kim S, Lee S, Kim J, Chang Y, Jeong T et al. Me-too validation study for in vitro skin irritation test with a reconstructed human epidermis model, KeraSkinTM for OECD test guideline 439. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2020; 117: 1-14. doi:10.1016/j.yrtph.2020.104725.
10. Groeber F, Schober L, Schmid F, Traube A, Kolbus-Hernandez S, Daton K, et al. Catch-up validation study of an in vitro skin irritation test method based on an open source reconstructed epidermis (phase II). *Toxicol in Vitro*. 2016; 36: 254-61. doi:10.1016/j.tiv.2016.07.008.
11. Kharchenko TF, Levytska VM, Kharchenko OA, Holovashchenko GV, Khomak CO, Isaieva CC. «Justification of an alternative method for determination of toxicity of perfume and beauty products by in vitro method on a short term suspension cell culture – cattle spermatozoa (literature review)». *Suchasni problemy toxicologii, kharchovoi ta khimichnoi bezpeky*. 2018; 2-3: 92-5.
12. Taping C, Popp D, Branski L. Pig Model to Test Tissue-Engineered Skin. *Methods Mol. Biol*. 2019; 1993: 239-49. doi:10.1007/978-1-4939-9473-1_19.
13. Génies C, Jamin E, Debrauwer L, Zalko D, Person EN, Eilstein J, et al. Comparison of the metabolism of chemicals in human and pig skin explants. *J Appl Toxicol*. 2019; 39 (2): 385-397. doi:10.1002/jat.3730.
14. Oesch F, Fabian E, Guth K, Landsiedel R. Xenobiotic-metabolizing enzymes in the skin of rat, mouse, pig, guinea pig, man, and in human skin models. *Arch Toxicol*. 2014; 88 (12): 2135-90. doi:10.1007/s00204-014-1382-8.
15. Oesch F, Fabian E, Landsiedel R. Xenobiotica-Metabolizing Enzymes in the Skin of Rat, Mouse, Pig, Guinea Pig, Man, and in Human Skin Models. *Arch Toxicol*. 2018; 92 (8): 2411-56. doi:10.1007/s00204-018-2232-x.
16. Qin O, Cheng Y, Hu W, Zhou H, Tan Y, Guo S et al. Patch test in Chinese in Shanghai with cosmetic allergy to cosmetic series and products. *J Cosmet Dermatol*. 2020; 19 (8): 2086-92. doi:10.1111/jocd.13249.
17. Garcia N, Doucet O, Bayer M, Fouchard D, Zastrow L, Marty JP, et al. Characterization of the barrier function in a reconstituted human epidermis cultivated in chemically defined medium. *Int J Cosmet Sci*. 2002; 24 (1): 25-34. doi:10.1046/j.0412-5463.2001.00112.x.
18. Netzlaff F, Lehr C, Wertz P, Schaefer U. The human epidermis models EpiSkin®, SkinEthic® and EpiDerm®: An evaluation of morphology and their suitability for testing phototoxicity, irritancy, corrosivity, and substance transport. *Eur J Pharm Biopharm*. 2005; 60 (2): 167-78. doi:10.1016/j.ejpb.2005.03.004.
19. Jirova D, Liebsch M, Basketter D, Spiller E, Kejllova K, Bendova H, et al. Comparison of human skin irritation and photo-irritation patch test data with cellular in vitro assays and animal in vivo data. *Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments*. 2008; 14: 359-65.
20. Lotz C, Schmid FF, Rossi A, Kurdyn S, Kampik D, Wever B, et al. Alternative methods for the replacement of eye irritation testing. *Altex*. 2016; 33 (1): 55-67. doi:10.14573/altex.1508241.
21. Barroso J, Pfannenbecker U, Adriaens E, Alépée N, Cluzel M, Smedt A, et al. Cosmetics Europe compilation of historical serious eye damage/eye irritation in vivo data analysed by drivers of classification to support the selection of chemicals for development and evaluation of alternative methods/strategies: the Draize eye test Ref. *Arch Toxicol*. 2017; 91 (2): 521-47. doi:10.1007/s00204-016-1679-x.
22. Organisation for Economic Co-operation and Development. Guidance document No 263 on integrated approaches to testing and assessment (IATA) for serious eye damage and eye irritation. 2019.
23. Kimura Y, Suto S, Tatsuka M. Evaluation of carcinogenic/co-carcinogenic activity of chikusaku-eki, a bamboo charcoal by-product used as a folk remedy, in BALB/c 3T3 cells. *Biol Pharm Bull*. 2002; 25 (8): 1026-9. doi:10.1248/bpb.25.1026.

24. Perocco P, Paolini M, Mazzullo M, Biagi GL, Cantelli-Forti G. β -Carotene as enhancer of cell transforming activity of powerful carcinogens and cigarette-smoke condensate on BALB/c 3T3 cells in vitro. *Mutat Res.* 1999; 440 (1): 83-90. doi:10.1016/S1383-5718(99)00009-1.
25. Tanaka N, Bohnenberger S, Kunkelmann T, Munaro B, Ponti J, Poth A, et al. Prevalidation study of the BALB/c 3T3 cell transformation assay for assessment of carcinogenic potential of chemicals. *Mutat Res.* 2012; 744 (1): 20-9. doi:10.1016/j.mrgentox.2011.12.008.
26. Poburski D, Thierbach R. Improvement of the BALB/c-3T3 cell transformation assay: A tool for investigating cancer mechanisms and therapies. *Scientific Reports.* 2016; 6: 1-8. doi:10.1038/srep32966.
27. Choo W, Moon B, Song S, Oh S. Morphological transformation induced by silver nanoparticles in a Balb/c 3T3 A31-1-1 mouse cell model to evaluate in vitro carcinogenic potential. *Environ Health and Toxicol.* 2017; 32: 1-8. doi:10.5620/eh.t.2017016.
28. Mauthe R, Gibson D, Bunch R, Custer L. The Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation assay: Review of the methods and results. *Toxicol Pathol.* 2001; 29: 138-46. doi:10.1080/019262301753178546.
29. Scientific Committee on Consumer Safety. The SCCS notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation 10th revision. 2016.
30. Hojerová J, Peráčková Z, Beránková M. Margin of safety for two UV filters estimated by invitro permeation studies mimicking consumer habits: Effects of skin shaving and sunscreen reapplication. *Food Chem Toxicol.* 2017; 103:66-78. doi:10.1016/j.fct.2017.02.013.
31. The state of safety science. Thomas Platzek, Germany. https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/epaa.pdf.
32. Ates G, Steinmetz F, Doktorova T, Madden J, Rogiers V. Linking existing in vitro dermal absorption data to physicochemical properties: Contribution to the design of a weight-of-evidence approach for the safety evaluation of cosmetic ingredients with low dermal bioavailability. *Regul Toxicol and Pharmacol.* 2016; 76:74-8. doi:10.1016/j.yrtph.2016.01.015.
33. Corazza M, Borghi A, Lauriola M, Virgili A. Use of topical herbal remedies and cosmetics: A questionnaire-based investigation in dermatology out-patients. *J Eur Acad Dermatol and Venereol.* 2009; 23 (11):1298-1303. doi:10.1111/j.1468-3083.2009.03314.x.
34. Valle A. Current methodologies in assessing toxicity of natural products. *Int J Phytocos Nat Ingrid.* 2018;5 (1): 1-6. doi:10.15171/ijpni.2018.03.
35. Fytianos G, Rahdar A, Kyzas G. Nanomaterials in cosmetics: Recent updates. *Nanomaterials.* 2020; 10 (5): 1-16. doi:10.3390/nano10050979.
36. Chen R, Chen Y, Liao M, Lee Y, Chen Z, Yan S, et al. The current understanding of autophagy in nanomaterial toxicity and its implementation in safety assessment-related alternative testing strategies. *Int J Mol Sci.* 2020; 21 (7): 2-24. doi:10.3390/ijms21072387.
37. Shatkin J, Ong K. Alternative Testing Strategies for Nanomaterials: State of the Science and Considerations for Risk Analysis. *Risk Anal.* 2016; 36 (8): 1564-80. doi:10.1111/risa.12642.
38. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals – Guideline 439: In vitro skin irritation: Reconstructed Human Epidermis test method. (2015).
39. Report: These Countries Have Banned Cosmetics Animal Testing. <https://www.skincarewatchdog.com/report-these-countries-have-banned-cosmetics-animal-testing/>.
40. Government action needed to curb explosion in “cruellest of cruel” animal tests in South Korea, says Humane Society International. <https://www.hsi.org/news-media/korea-lab-animal-statistics-2018/>.

Дата надходження рукопису до редакції: 03.12.2021 р.

Мета. Проаналізувати існуючі альтернативні методи тестування косметичної продукції та оцінити можливості їх використання в Україні.

Матеріали та методи. При виконанні роботи проаналізовані публікації вітчизняних та зарубіжних видань та керівні документи міжнародних організацій щодо тестування косметичної продукції.

Результати. На основі аналізу даних оцінені альтернативні методи та діючі керівництва міжнародних організацій щодо тестування косметичної продукції. Визначені проблемні питання, які потребують вирішення задля впровадження в Україні підходів тестування косметичної продукції без використання тварин.

Висновки. Впровадження альтернативних методів оцінки токсичності косметичної продукції представляє собою непросте завдання як для України, так і для інших країн світу. Це пов'язано, перш за все, з відсутністю протоколів оцінки всіх кінцевих токсикологічних точок і невизначеністю загальноприйнятих стратегій тестування нових інгредієнтів та косметичних складів, які містять рослинну сировину та наноматеріали. Для України відкритими залишаються питання затвердження альтернативних методів, стратегій тестування та обмежена кількість фахівців, які мають досвід роботи з альтернативними моделями та володіють методами in vitro.

Ключові слова: косметична продукція, директива, токсичність, альтернативні методи.

Цель. Проанализировать существующие альтернативные методы тестирования косметической продукции и оценить возможности их использования в Украине.

Материалы и методы. При выполнении работы проанализированы публикации отечественных и зарубежных изданий и руководящие документы международных организаций, которые используются для тестирования косметической продукции.

Результаты. На основе анализа данных оценены альтернативные методы и действующие руководства международных организаций по тестированию косметической продукции. Определены проблемные вопросы, требующие решения для внедрения в Украине подходов тестирования косметической продукции без использования животных.

Выводы. Внедрение альтернативных методов оценки токсичности косметической продукции представляет собой непростую задачу как для Украины, так и для других стран мира. Это связано, прежде всего, с отсутствием протоколов оценки всех конечных токсикологических точек и неопределенностью общепринятых стратегий тестирования новых ингредиентов и косметических составов, содержащих растительное сырье и наноматериалы. Для Украины открытыми остаются вопросы утверждения альтернативных методов, стратегий тестирования и ограниченное количество специалистов, имеющих опыт работы с альтернативными моделями и владеющими методами *in vitro*.

Ключевые слова: косметическая продукция, директива, токсичность, альтернативные методы.

Purpose. Analyze existing alternative methods of testing cosmetic products and assess the possibilities of their use in Ukraine.

Materials and methods. In the course of the work, publications of domestic and foreign publications and guidelines of international organizations, which are used for testing cosmetic products, were analyzed.

Results. On the basis of data analysis, alternative methods and current guidelines of international organizations for testing cosmetic products were evaluated. The problematic issues that require solutions for the introduction in Ukraine of approaches to testing cosmetic products without the use of animals have been identified.

Conclusions. The introduction of alternative methods for assessing the toxicity of cosmetic products is a challenge both for Ukraine and other countries of the world. This is primarily due to the lack of evaluation protocols for all toxicological endpoints and cosmetic formulations containing plant raw materials and nanomaterials. For Ukraine, the issues of approval of alternative methods, testing strategies and the limited number of specialists with experience with alternative models and knowledge of *in vitro* methods remains open.

Key words: cosmetic products, directive, toxicity, alternative methods.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: absent.

Відомості про авторів

Яструб Тетяна Олександрівна – кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії токсикології пестицидів та гігієни праці при їх застосуванні ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва Національної академії медичних наук України» (установа актуальна для усіх авторів); м. Київ, Україна.
tatyanaastrub@gmail.com, ORCID ID 0000-0002-5084-3773.

Худенко Наталія Володимирівна – магістр біології, співробітник.
hudenkonataliia@gmail.com, ORCID ID 0000-0003-3460-9511.

Коваленко Вадим Феодосійович – кандидат біологічних наук, науковий співробітник.
vkovalenko777@gmail.com, ORCID ID 0000-0003-1157-3560.

Григор'єва Катерина Володимирівна – кандидат медичних наук, науковий співробітник.
hrykv39@gmail.com, ORCID ID 0000-0001-8532-1265.

Донцова Дарія Олександрівна – молодший науковий співробітник.
dontsova.dariia@gmail.com, ORCID ID 0000-0003-3676-1672.

Пригунова Вікторія Вікторівна – молодший науковий співробітник.
viktoriatyutyunnik@gmail.com, ORCID ID 0000-0002-4143-488X.