

UDC 687.55-049.5:001.891.54] (045)

АЛЬТЕРНАТИВНІ МЕТОДИ ОЦІНКИ БЕЗПЕЧНОСТІ КОСМЕТИЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ НА ОСНОВІ IN VITRO МОДЕЛЕЙ

Дронько Лілія Миколаївна

dronko-fbmi@lil.kpi.ua

кафедра трансляційної медичної біоінженерії

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,

м. Київ, Україна

Луценко Тетяна Миколаївна

lutsenko.tetiana@lil.kpi.ua

кафедра трансляційної медичної біоінженерії

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,

м. Київ, Україна

ТОВ «УА «ПРО-ФАРМА»,

м. Київ, Україна

Анотація - Керуючись новими нормативними вимогами, що введені 7-ою поправкою до Регламенту Європейського парламенту та Ради Європейського Союзу № 1223/2009 «Про косметичні засоби» дослідники в галузі косметичної промисловості зобов'язані розробити та оцінити альтернативні стратегії тестування, такі як аналізи *in vitro*, підходи *in silico* для токсикологічних аналізів та досліджень ефективності косметичних продуктів та косметичних інгредієнтів. Як наслідок, Європейський центр перевірки альтернативних методів (ECVAM) затвердив список валідованих клітинних моделей *in vitro* для прогнозування безпеки та токсичності косметичних інгредієнтів. Ці моделі є ефективними та альтернативними інструментами для подолання обмежень досліджень на тваринах *in vivo*, в зв'язку з слідуванням принципу 3R. Оскільки всі дослідження, що проводяться на тваринах є жорстокими по відношенню до піддослідних тварин, під час яких вони зазнають страждань і гинуть. Проте досі існують методики, що не мають альтернативи серед *in vitro* методик. У цьому огляді представлено основні альтернативні моделі *in vitro*, які використовуються в тестах безпеки косметичних продуктів, що зосереджені на сенсibiliзації шкіри, роз'їданні шкіри, подразненні шкіри та поглинанні шкірою. Також наведено огляд використання 3D технологій, які є перспективним для оцінки токсичності речовин, що містяться в косметиці, особливо для аналізу токсичності повторних доз, для якого наразі немає альтернативних методів *in vitro*. Проте ці технології, потребують доопрацювання і проведення перевірки та прийняття регуляторними органами як ефективний метод. Для досягнення цієї перевірки знадобиться співпраця між дослідниками, регуляторними організаціями та промисловістю. Для українського ринку косметичних продуктів робота над альтернативою *in vivo* дослідженням, які передбачають використання лабораторних тварин, також являється важливим та перспективним напрямом. Таке як відбувається гармонізація нормативного законодавства України з законодавством Європейського Союзу, і введення в дію вимог технічного регламенту щодо косметичної продукції передбачається в серпні 2024 року.

Ключові слова: *in vitro* тести, безпечність, токсикологія, дерматологічні засоби, альтернативні варіанти тестування на тваринах, косметичні продукти, Технічний регламент.

I. ВСТУП

В сучасному світі косметична промисловість є глобальним сектором, який постійно розвивається. В останні десятиліття інновації галузі призвели до широкого спектру нових продуктів та збільшення продажів.

Косметика і засоби індивідуальної гігієни безпосередньо взаємодіють з людським організмом. Хімічний аналіз показує, що вже через 90 секунд речовини, нанесені на шкіру, потрапляють у кров [1]. Водночас понад 125 інгредієнтів, що використовуються виробниками косметики, можуть спричинити онкологічні захворювання шкіри. Тому особливу увагу слід зосередити на забезпеченні високого рівня безпеки для людини при використанні косметичних продуктів.

Нормативні вимоги до косметичної продукції, що надходить на ринок регулюються Регламентом Європейського парламенту та Ради Європейського Союзу № 1223/2009 «Про косметичні засоби» (далі – Регламент № 1223/2009), що набрав чинності на території Європейського Союзу 11.01.2010 р. [2]. Україна перебуває на шляху гармонізації законодавства у даній сфері з законодавством Європейського Союзу, тому у січні 2021 року Кабінет Міністрів України прийняв Технічний Регламент, який повністю відповідає Регламенту № 1223/2009, що набирає чинності 03.08.2024 р., з перехідним періодом до 2026 р. [3].

Зазначені вище нормативні документи вводять заборону на тестування косметичних засобів та інгредієнтів, що використовуються в косметичних продуктах на тваринах в ЄС.

З огляду на це виникає питання в розробці альтернативних методів тестування, що не передбачають використання в якості тест систем, тварин. На сьогодні вже розроблено та адаптовано широкий спектр аналізів *in vitro* для оцінки безпеки косметичних інгредієнтів і продуктів, проте все ще потрібно багато досліджень, щоб зменшити або подолати обмеження, властиві аналізам *in vitro*.

Клітинні моделі є найкращою альтернативою тваринам, їх легше адаптувати для скринінгу косметичних продуктів високопродуктивним способом,

так як вони дають відповіді за відносно короткий час. Однак, вони мають кілька обмежень, які слід уважно розглянути перед початком використання цих методів на практиці. Наприклад, системам, заснованим на одній клітинній лінії, не вистачає міжклітинного зв'язку з іншими типами клітин, і клітини в ізоляції можуть поводитися по-іншому в порівнянні з тими, які присутні в фізіологічному контексті [4-6].

З огляду на це перспективним напрямком є розробка методів аналізу косметичних продуктів та інгредієнтів з яких створюються косметичні продукти на *in vitro* моделях з використанням клітинних ліній.

II. МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Аналіз існуючих методів оцінки безпечності косметичних виробів та визначення перспектив та шляхів використання *in vitro* методів.

III. МЕТОДИ ОЦІНКИ БЕЗПЕЧНОСТІ КОСМЕТИЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ НА МОДЕЛЯХ *IN VITRO*

Перед розміщенням косметичного продукту на ринку відповідальна особа повинна переконатися, що безпечність косметичного продукту оцінена та підготувати Звіт з безпеки косметичної продукції (CPSR (Cosmetic Product Safety Report)) згідно з Додатком I Регламенту про косметику [3].

Звіт про безпеку косметичної продукції повинен містити:

- якісний і кількісний склад косметичного продукту;
- фізико-хімічні характеристики речовин і сумішей; стабільність продукту за стандартних умов зберігання;
- показники мікробіологічної якості;
- домішки, сліди, інформацію про пакувальний матеріал; чистоту речовин і сумішей; у випадку слідів заборонених речовин — докази щодо їх технічної неминучості;
- умови застосування, передбачене використання продукту;
- дані щодо впливу косметичного продукту з урахуванням місця та площі поверхні застосування, кількості, тривалості та частоти використання, цільового

призначення або впливу на певну групу споживачів;

– дані про вплив інгредієнтів на токсикологічні показники;

– токсикологічний профіль речовин продукту;

– небажані ефекти косметичного продукту;

– іншу інформацію (щодо ефективності або оцінки ризиків).

До недавнього часу всі токсикологічні дослідження проводилися з використанням піддослідних тварин. Проте такі дослідження передбачали використання великої кількості тварин, які зазнавали страждань і в більшості випадків випробування закінчувалися загибеллю тварин. Тому нове нормативне регулювання сприяло впровадженню принципів 3R (refinement, reduction, and replacement), що передбачає заміни, скорочення та удосконалення при використанні тварин у наукових дослідженнях. Replacement (заміна): використання методів, таких як культура клітин (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 та страждання лабораторних тварин, якщо їх використання не може бути замінене.

Оцінка безпеки косметичних інгредієнтів — це галузь досліджень, яка швидко розвивається, включаючи оцінку альтернативних підходів, придатних для нормативного впровадження та розробки методологій *in vitro*, *in chemico* та *in silico*, які дозволять уникнути використання

досліджень на тваринах.

Заборона маркетингу готових косметичних продуктів, а також продуктів що містять інгредієнти дослідження яких проводили на тваринах після введення в Європейському Союзі Регламенту № 1223/2009 викликала потребу в нових інтегрованих підходах до тестування та оцінки косметичних інгредієнтів та косметичних продуктів [7]. Важливо зазначити, що оцінка безпеки косметичних інгредієнтів і продуктів, яка наведена в «Рекомендація щодо тестування косметичних інгредієнтів і оцінки їх безпеки», що були запропоновані Науковим комітетом із безпеки споживачів (SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety)) ЄС включають, серед іншого тести на гостру токсичність, на корозія та подразнення, на сенсibilізацію шкіри, на шкірну абсорбцію, на хронічну токсичність, на мутагенність/генотоксичність, канцерогенність та токсикокінетичні дослідження [8].

Нові підходи до оцінки токсичності косметики та косметичних інгредієнтів вимагають нових типів даних, які раніше не використовувалися як показники безпеки косметики. Тому перед дослідниками постало питання розробки нових методи тестування без використання тварин для оцінки різних видів токсичності речовин.

Розробка методів тестування токсичності без використання тварин, так званих альтернативних тестів, стала активною сферою досліджень у токсикологічних науках, що, у свою чергу, спричинило зміну парадигми традиційних оцінок токсичності за допомогою тварин.

Останнім часом було досягнуто величезного прогресу в галузі токсикологічних досліджень та розроблено величезну кількість як звичайних тваринних моделей та альтернативні їм двовимірні моделі *in vitro* (таблиця 1).

Таблиця 1. Перелік показників токсичності та розроблених альтернативних їм *in vitro* методик.

№	Токсиколого-гігієнічні показники	Тип тестування /дослідження <i>in vitro</i>	Що вимірює	Модель, що використовується для тестування	Короткий опис отримуваних результатів
1	Подразнення шкіри	OECD Test Guideline 439 [9]	Життєздатність клітин шкіри	Реконструйований епідерміс людини	Результатом цього тесту є двійкова класифікація (подразнює чи не подразнює).
		Skin Irritation (ET50)	Життєздатність клітин шкіри	Реконструйований епідерміс людини	Відносний потенціал подразнення ряду речовин. Призводить до детальної класифікації на важкий, помірний, легкий або мінімальний / без подразнення.
2	Корозія шкіри	Skin corrosion test OECD TG 431 [10]	Життєздатність клітин шкіри	Реконструйований епідерміс людини	Результатом є двійкова класифікація корозійних або не корозійних речовин.
3	Подразнення слизової оболонки очей	Eye Irritation OECD TG 492 [11]	Життєздатність клітин рогівки	Реконструйований епітелій рогівки людини	Результатом є «подразнює» або «не подразнює».
		Ocular Irritation OECD TG 496 [12]	Оптична щільність макромолекулярної матриці	Макромолекулярне тестування <i>in vitro</i>	Біохімічний тест <i>in vitro</i> , який досліджує здатність речовини викликати серйозні пошкодження або не викликати подразнення очей.
		Eye Irritation Test ET50	Життєздатність клітин рогівки	Реконструйований рогівковий епітелій людини	Метод ET50 надає профіль пошкодження рогівки з плином часу, що призводить до класифікації важкого, середнього, легкого або мінімального / без подразнення.

№	Токсиколого-гігієнічні показники	Тип тестування /дослідження <i>in vitro</i>	Що вимірює	Модель, що використовується для тестування	Короткий опис отримуваних результатів
4	Гостра токсичність	AcutoX Acute Toxicity Test	Життєздатність фібробластів	Дермальні фібробласти людини	Результатом тесту є IC50 (доза цитотоксичної сполуки, при якій досягається 50% життєздатності) як <i>in vitro</i> альтернатива традиційному LD50 <i>in vivo</i> на основі тварин.
5	Гостра пероральна токсичність	Аналіз цитотоксичності ЗТЗ Neutral Red Uptake (NRU)	Оцінка поглинання клітинами барвника в присутності певної речовини	Лінії клітин ембріональних фібробластів миші BALB/c ЗТЗ	На основі дослідження та попередніх досліджень рекомендують розглянути дані аналізу ЗТЗ NRU перед початком експериментів на тваринах.
6	Сенсибілізуюча дія	Нормативний тест на сенсибілізацію шкіри h-CLAT OECD 442E [13]	Активация дендритних клітин	Клітинна лінія людини (h-CLAT)	Отримані за допомогою методу h-CLAT, слід розглядати в контексті інтегрованого підходу, тобто в поєднанні з іншими моделями сенсибілізації шкіри <i>in vitro</i> та <i>in chemico</i> . Стандартний тест h-CLAT включає використання компонентів тваринного походження в тест-системі, таких як сироватка та антитіла. Тест удосконалюється.
		KeratinoSens (OECD TEST GUIDELINE 442D)	Активация кератиноцитів	Клітинна лінія KeratinoSens	Цей метод тестування стосується ключової події, яка відбувається в клітинах епідермісу (кератиноцитах). Він індукує запальні реакції, а

№	Токсиколого-гігієнічні показники	Тип тестування /дослідження <i>in vitro</i>	Що вимірює	Модель, що використовується для тестування	Короткий опис отримуваних результатів
					також експресію генів, пов'язаних зі специфічними клітинними сигнальними шляхами. KeratinoSens — це лінія клітин кератиноцитів людини, що містить ген люциферази, пов'язаний із геном, який, як відомо, активізується контактними сенсорибілізаторами.
		(DPRA) (OECD TEST GUIDELINE E 442C) [13]	Зв'язування з білками	Прямий аналіз пептидної реактивності (DPRA)	З метою ідентифікації небезпеки досліджувані елементи в класі мінімальної реактивності класифікуються як несенсибілізуючі. Тестові елементи класів низької, середньої або високої реактивності класифікуються як позитивні (сенсорибілізатори).
7	Генотоксичність*	Мікроядерний тест (MNT) <i>in vitro</i> (OECD Test Guideline 487) [14]	Мікроядра в клітинах людини	Клітини ссавців <i>in vitro</i>	Тест виявляє вплив як анеугенів (які змінюють кількість хромосом), так і кластогенів (які пошкоджують або розривають хромосоми).
		BlueScreen Animal-Free (BS-AF)	Мутагени, кластогени та аневгени	BlueScreen™ Animal-Free (BS-AF)	Виявляє всі три основні класи генотоксинів (мутагени, кластогени та анеугени) в одному тесті. Він забезпечує

№	Токсиколого-гігієнічні показники	Тип тестування /дослідження <i>in vitro</i>	Що вимірює	Модель, що використовується для тестування	Короткий опис отримуваних результатів
					класифікацію як генотоксичний або негенотоксичний. Клітини людини, які використовуються в тесті BlueScreen, отримують з лінії лейкоцитів людини ТК6.
8	Цитотоксичність	GEN 162 Тести на цитотоксичність (ISO 10993-5) [15]	Цитотоксичний ефект речовини на клітину	Клітини ссавців <i>in vitro</i>	Цей метод випробування передбачає інкубацію культивованих клітин, які контактують з пристроєм або екстрактами пристрою, безпосередньо або шляхом дифузії.

*Зазвичай спочатку проводять такі дослідження *in vitro*. Якщо є будь-яка позитивна відповідь у дослідженні *in vitro*, зазвичай потрібне подальше дослідження *in vivo* для тієї самої кінцевої точки.

Проте крім наведених вище методик досліджень, досі є великий спектр аналізів на тваринах, що не мають альтернативної заміни без використання *in vivo* моделей для тестування (таблиця 2).

Одним із таких тестів є тестування на гостру пероральну токсичність. Обмеження, пов'язані з підходом *in vitro* досліджень, полягають в тому, що більшість клітинних систем представляють лише один тип клітин у порівнянні з експериментом на цілих тваринах, де сотні

клітин об'єднані в тканини та взаємодіють одна з одною фізіологічно. Дегенерація клітин через безперервне виснаження поживних речовин, накопичення відходів і недостатнє постачання киснем, що призводить до анаеробних умов культивування, часто є загальним для деяких умов *in vitro*. Іноді клітинні лінії, розміщені в банках, можуть бути забруднені через погані умови зберігання. Також можуть виникнути етичні проблеми щодо донорства людських тканин.

Таблиця 2. Токсиколого-гігієнічні показники які не мають аналогів *in vitro*

№	Токсиколого-гігієнічні показники	Методи <i>in vivo</i>	Примітки
1	Гостра пероральна токсичність	<p>Гостра пероральна токсичність - Процедура фіксованої дози: рекомендація OECD щодо тестування 420 [16]</p> <p>Гостра пероральна токсичність - метод класу гострої токсичності: рекомендація OECD щодо тестування 423 [17]</p> <p>Гостра пероральна токсичність - процедура «вгору-вниз»: рекомендація OECD щодо тестування 425 [18]</p> <p>Види тварин: щури, миші.</p>	Наразі немає перевірених методів тестування.
2	Токсичність для репродуктивної функції	<p>Скринінговий аналіз репродуктивної токсичності/токсичності для розвитку (OECD TG 421) [19]</p> <p>Тест на пренатальну токсичність для розвитку (OECD TG 414) [20]</p> <p>Дослідження репродуктивної токсичності двох поколінь (OECD TG 416) [21]</p> <p>Розширене дослідження репродуктивної токсичності в одному поколінні (EOGRTS; OECD TG 443) [22]</p> <p>Види тварин: щури, миші, кролики, даніо.</p>	Віддають перевагу OECD 416, оскільки є можливість використовувати набагато меншу кількість тварин.
3	Токсичність при повторних дозах	<p>Підгостра токсичність</p> <p>28-денне дослідження пероральної токсичності на гризунах (OECD TG 407) [23]</p> <p>Шкірна токсичність: 21/28-денне дослідження (щур, кролик або морська свинка) (OECD TG 410) [24]</p> <p>Токсичність при вдиханні: 28-денне дослідження на гризунах (OECD TG 412) [25]</p> <p>Субхронічна токсичність</p> <p>90-денне дослідження пероральної токсичності на гризунах (OECD TG 408) [26]</p> <p>90-денне дослідження пероральної токсичності на негризунах (OECD TG 409) [27]</p> <p>Шкірна токсичність: 90-денне дослідження (щур, кролик або морська свинка) (OECD TG 411) [411]</p> <p>Токсичність при вдиханні: 90-денне дослідження на гризунах (OECD TG 413) [29]</p> <p>Хронічна токсичність</p> <p>Дослідження хронічної токсичності на гризунах (OECD</p>	-

		TG 452) Комбіновані дослідження хронічної токсичності/канцерогенності (OECD TG 453)	
--	--	---	--

IV. 3D МОДЕЛІ, ЯК ПЕРСПЕКТИВНИЙ НАПРЯМ ДЛЯ *IN VITRO* ДОСЛІДЖЕНЬ ТОКСИЧНОСТІ

Розроблені методики *in vitro* тестувань токсичності хоч і показують гарні результати і дозволяють замінити деякі багато які токсикологічні дослідження, проте існують методики які не можливо замінити випробуваннями на культурах клітин. Це пов'язано з тим, що моношарові культури клітин не відтворити внутрішньотканинної взаємодії між клітинами в багатоклітинному організмі.

Тому новим етапом розвитку токсикологічних досліджень є створення тривимірних моделей шкіри *in vitro* нового покоління, які можуть точніше відображати архітектуру шкіри та клітинний склад і дозволяти точніше оцінювати токсикологічний профіль різних речовин. Однак наразі вони лише в розробці та не стандартизовані регуляторними органами, як альтернативні моделі.

Незважаючи на численні досягнення та можливості з моделями шкіри, зробленими до цього часу, подальший аналіз і розробка моделі розширяють можливості дослідження. Дійсно, наразі розроблені моделі, які реконструюють лише епідерміс людини, такі як SkinEthic™ (EpiSkin, L'Oréal Lyon France), інші повторюють дермальний і епідермальний шари, такі моделі як Vitrolife-Skin™ (Киото, Японія), Phenion® Full-Thickness модель шкіри (Henkel, Дюссельдорф, Німеччина), EpiDerm-FT™ (Mattek, Ashland, США) [32].

Проте в цих моделях шкіри наявний суттєвий недолік, це відсутність у них судинної системи що забезпечуватиме постачання поживних речовин, кисню, видалення відходів. Тому не можна говорити про абсолютну ідентичність таких моделей, реальному шкірному покриву людини [33].

На сьогодні вчені в галузі клітинної та

тканинної інженерії працюють над створенням еквіваленту шкіри, які дозволяють включити широкий спектр типів клітин і структур, які більше нагадують справжню структуру органу. Включення адипоцитів, ендотеліальних клітин, які викликають васкуляризацію, імунних клітин або клітин Лангерганса для відтворення імунної відповіді, хемокінів для сприяння диференціації клітин або гангліозних нейронів для відтворення периферичної нервової системи шкіри є вдосконаленням поточних моделей шкіри *in vitro*, щоб краще імітувати її реакцію на дослідження токсичності [34].

V. ВИСНОВКИ

Оцінка токсичності має вирішальне значення в оцінці безпеки косметики. Сучасні технології *in vitro* та *in vivo* показали обмеження в точному прогнозуванні токсичності косметологічних продуктів та інгредієнтів на шкіру людини.

Крім того, оскільки моделі шкіри тварин мають іншу структуру та інші імунологічні відповіді порівняно зі шкірою людини, а також було введено нормативне регулювання обігу косметичної продукції, що забороняє обіг тієї продукції при виробництві якої було проведено тестування на тваринах, то постало питання в пошуку альтернативних високопродуктивних методів скринінгу *in vitro* та *in silico* для оцінки токсикологічних характеристик.

Наступним поколінням *in vitro* моделей є 3D моделі шкіри, які більш точно відобразатимуть архітектуру шкіри та клітинний склад для більш точного токсикологічного профілювання випробовуваних речовин.

Фінансування. Дане дослідження не отримувало зовнішнього фінансування.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Згода на публікацію. Усі задіяні особи, що мають відношення до рукопису дали згоду на публікацію даної роботи.

ORCID ID та внесок авторів.

[0009-0004-2292-1887](https://orcid.org/0009-0004-2292-1887) (A,B,D) Dronko Liliia

[0000-0002-6023-0428](https://orcid.org/0000-0002-6023-0428) (C,E,F) Lutsenko Tetiana

A- Концепція роботи та дизайн, B- аналіз даних, C - Відповідальність за статистичний аналіз, D- Написання статті, E- Критичний огляд, F- Остаточне схвалення статті.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Filaire E, Nachat-Kappes R, Laporte C, Harmand MF, Simon M, Poinso C. Alternative in vitro models used in the main safety tests of cosmetic products and new challenges. *Int J Cosmet Sci.* 2022 Dec;44(6):604-613. doi: 10.1111/ics.12803. Epub 2022 Aug 28. PMID: 35842748.
2. European Parliament. Regulation (EC) no 1223/2009 of the European Parliament and of the council of 30 November 2009 on cosmetic products. *Off J Eur Union.* 2009;L396:1–1355. Available from: <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1223/oj>.
3. Постанова кабінету міністрів України від 20 січня 2021 р. № 65 «Про затвердження Технічного регламенту на косметичну продукцію»
4. Bopp SK, Barouki R, Brack W et al (2018b) Current EU research activities on combined exposure to multiple chemicals. *Environ Int* 120:544–562. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.07.037>
5. Guichard A, Remouy N, Honneger T. *In vitro* sensitive skin models: review of the standard methods and introduction to a new disruptive technology. *Cosmetics.* 2022;9:67.
6. Bopp SK, Kienzler A, Richarz AN et al (2019) Regulatory assessment and risk management of chemical mixtures: challenges and ways forward. *Crit Rev Toxicol* 49(2):174–189. <https://doi.org/10.1080/10408444.2019.157916>
7. Knight J, Rovida C, Kreiling R, Zhu C, Knudsen M, Hartung T Continuing animal tests on cosmetic ingredients for REACH in the EU. *ALTEX.* 2021;4:653–68.
8. SCCS. In: Scientific Committee on Consumer Safety Ed, editor The SCCS's notes of guidance for the testing of cosmetic substances and their safety evaluation. Brussels: European Commission; 2015.
9. OECD (2015f) Test No. 439: In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-439-in-vitro-skin-irritation-reconstructed-human-epidermis-test-method_9789264242845-en
10. OECD (2016g) Test No. 431: In vitro skin corrosion: reconstructed human epidermis (RHE) test method. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-431-in-vitro-skin-corrosion-reconstructed-human-epidermis-rhe-test-method_9789264264618-en
11. OECD (2018q) Test No. 492: Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-492-reconstructed-human-cornea-like-epithelium-rhce-test-method-for-identifying-chemicals-not-requiring-classification-and-labelling-for-eye-irritation-or-serious-eye-damage_9789264242548-en
12. OECD (2019b) Test No. 496: In vitro Macromolecular Test Method for Identifying Chemicals Inducing Serious Eye Damage and Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-496-in-vitro-macromolecular-test-method-for-identifying-chemicals-inducing-serious-eye-damage-and-chemicals-not-requiring-classification-for-eye-irritation-or-serious-eye-damage_970e5cd9-en. Accessed 25 Mar 2020
13. OECD (2018k) Test No. 442E: In Vitro Skin Sensitisation. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-442e-in-vitro-skinsensitisation_9789264264359-en
14. OECD (2016o) Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-487-in-vitro-mammalian-cell-micronucleus-test_9789264264861-en
15. Sachana M (2019) An international effort to promote the regulatory use of PBK models based on non-animal data. *Comput Toxicol* 11(19):23–24
16. OECD (2002a) Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-420-acute-oral-toxicity-fixed-dose-procedure_9789264070943-en
17. OECD (2002b) Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-423-acute-oral-toxicity-acute-toxic-class-method_9789264071001-en
18. OECD (2008b) Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-425-acute-oral-toxicity-up-and-down-procedure_9789264071049-en
19. OECD (2016e) Test No. 421: Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-421-reproductive-developmental-toxicity-screening-test_9789264264380-en
20. OECD (2018f) Test No. 414: Prenatal Developmental Toxicity Study. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-414-prenatal-developmental-toxicity-study_9789264070820-en
21. OECD (2010a) Test No. 416: Toxicokinetics. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-416-toxicokinetics_9789264070882-en
22. OECD (2018i) Test No. 442B: Skin Sensitization. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-442b-skin-sensitization_9789264090996-en

23. OECD (2008a) Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070684-en. Accessed 27 Feb 2019
24. OECD (2010a) Test No. 417: Toxicokinetics. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-417-toxicokinetics_9789264070882-en
25. OECD (1981b) Test No. 412: Subchronic Dermal Toxicity: 90-day Study. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-412-subchronic-dermal-toxicity-90-day-study_9789264070769-en
26. OECD (2018c) Test No. 408: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-408-repeated-dose-90-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070707-en
27. OECD (2018b) OECD Regulatory Policy Outlook 2018
28. OECD (2018d) Test No. 411: Subacute Inhalation Toxicity: 28-Day Study. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-411-subacute-inhalation-toxicity-28-day-study_9789264070783-en
29. OECD (2018e) Test No. 413: Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day Study. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-413-subchronic-inhalation-toxicity-90-day-study_9789264070806-en
30. OECD (2018n) Test No. 452: Chronic Toxicity Studies. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-452-chronic-toxicity-studies_9789264071209-en
31. OECD (2018o) Test No. 453: Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-453-combined-chronic-toxicity-carcinogenicity-studies_9789264071223-en
32. Stojic M, López V, Montero A, Quílez C, de Aranda Izuzquiza G, Vojtova L, et al. Skin tissue engineering. In: García-Gareta E, editor. Biomaterials for Skin Repair and Regeneration. Woodhead Publishing; 2019:59–99.
33. Risueno I, Valencia L, Jorcano JL, Velasco D. Skin-on-a-chip models: general overview and future perspectives. APL Bioengineering. 2021;5:03090.
34. Jeong KH, Park D, Lee YC. Polymer-based hydrogel scaffolds for skin tissue engineering applications: a mini-review. J Polym Res. 2017;24:1278–84.

UDC 687.55-049.5:001.891.54](045)

ALTERNATIVE METHODS OF SAFETY ASSESSMENT OF COSMETIC PRODUCTS BASED ON IN VITRO MODELS

Liliia Mykolaivna Dronko

dronko-fbmi@lil.kpi.ua

department of translational medical bioengineering
National Technical University of Ukraine
"Ihor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute",
Kyiv, Ukraine

Tetyana Mykolayivna Lutsenko

lutsenko.tetiana@lil.kpi.ua

department of translational medical bioengineering
National Technical University of Ukraine
"Ihor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute",
Kyiv, Ukraine
UA "PRO-PHARMA" LLC,
Kyiv, Ukraine

Abstract – Guided by the new regulatory requirements introduced by the 7th amendment to the Regulation of the European Parliament and the Council of the European Union No. 1223/2009 "On cosmetic products", researchers in the field of the cosmetic industry are obliged to develop and evaluate alternative testing strategies, such as in vitro assays, approaches in silico for toxicological analyzes and efficacy studies of cosmetic products and cosmetic ingredients. As a result, the European Center for the

Validation of Alternative Methods (ECVAM) approved a list of validated in vitro cellular models for predicting the safety and toxicity of cosmetic ingredients. These models are effective and alternative tools to overcome the limitations of in vivo animal studies due to the adherence to the 3R principle. Because all animal research is cruel to the test animals, during which they suffer and die. However, there are still methods that have no alternative among in vitro methods. This review presents the main alternative in vitro models used in cosmetic product safety testing focusing on skin sensitization, skin corrosion, skin irritation and skin absorption. An overview of the use of 3D technologies is also given, which is promising for the assessment of the toxicity of substances contained in cosmetics, especially for the analysis of repeated dose toxicity, for which there are currently no alternative in vitro methods. However, these technologies require refinement and verification and acceptance by regulatory bodies as an effective method. Achieving this verification will require collaboration between researchers, regulatory organizations and industry. For the Ukrainian market of cosmetic products, work on an alternative to in vivo research, which involves the use of laboratory animals, is also an important and promising direction. For example, the regulatory legislation of Ukraine is being harmonized with the legislation of the European Union, and the implementation of the requirements of the technical regulation on cosmetic products is expected in August 2024.

Key words – *in vitro tests, safety, toxicology, dermatological products, Animal Testing Alternatives, cosmetic products, Technical Regulations.*