

## ДО ОБГРУНТУВАННЯ АЛЬТЕРНАТИВНОГО МЕТОДУ ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПАРФУМЕРНО- КОСМЕТИЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ МЕТОДОМ «IN VITRO» НА КОРОТКОЧАСНІЙ СУСПЕНЗІЙНІЙ КУЛЬТУРІ КЛІТИН—СПЕРМАТОЗОЇДАХ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ (огляд літератури)

Т.Ф. Харченко, В.М. Левицька, О.А.Харченко, Г.В.Головащенко,  
С.О. Хомак, С.С. Ісаєва

ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки  
імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України», м. Київ, Україна

**РЕЗЮМЕ. Мета.** На основі літературних даних та директивної документації викладені основні мотиви використання альтернативних методів для визначення токсичної дії парфумерно-косметичної продукції.

**Методи дослідження** - альтернативні методи на основі оцінки токсичності з використанням короткочасної суспензійної культури клітин сперматозоїдів великої рогатої худоби (ВРХ). Токсикологічний прогноз альтернативного методу за результатами досліджень близький до значимості токсикологічного прогнозу, одержаного в експерименті з використанням лабораторних тварин. Рухливість – інтегральний показник фізіологічного, біохімічного та морфологічного статусу короткочасної суспензійної культури клітин ссавців- сперматозоїдів великої рогатої худоби (ВРХ).

**Висновки.** Аргументація щодо введення альтернативних методів для визначення токсичної дії парфумерно-косметичної продукції (ПКП) направлена на гуманне відношення до тварин, а також на зменшення вартості та скорочення часу проведення досліджень.

**Ключові слова:** токсичність, парфумерно-косметологічна продукція, альтернативні методи, сперматозоїди, велика рогата худоба.

За кордоном основний мотив використання альтернативних методів у токсикології – етичний. Його лобіюють впливові суспільні сили. Токсиколого - гігієнічна значимість альтернативного методу визначається вибраним тест – об'єктом і його тест-функцією. Слід відзначити, що рухливі клітини (ВРХ) є адекватним тест - об'єктом для розробки альтернативних методів. Доказовим аргументом є те, що тест-об'єкт підходить до токсикологічних досліджень з високою кореляцією результатів досліджень у порівнянні з результатами досліджень з використанням тварин класичними токсикологічними методами [1].

Токсичність витяжки оцінюється зміною тест-функції (у досліді та в контролі), що дозволяє зробити прогноз дії витяжки на весь організм і культуру клітин ссавців. Якщо витяжки належать до конкретної групи виробів (наприклад, шампуні), то варто визначити мінімальне розведення (або нормативне), при якому витяжка може бути визнана або токсичною, або

нетоксичною. Висока технологічність альтернативного методу і низька вартість одного дослідження визначає необхідні умови для значного поширення методу з короткочасною суспензійною культурою клітин.

Експрес-метод оцінки токсичності витяжок із косметичних виробів заснований на аналізі залежності показників рухливості сперматозоїдів ВРХ від часу. Випробування косметичної продукції на цитотоксичну дію проводяться відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 10993-5:2015 «Випробування на цитотоксичність». Основними документами, що регулюють обіг косметичної продукції нині в Україні є ДСанПін2.2.9.027-99 «Санітарні правила і норми безпеки продукції парфумерно-косметичної промисловості. Державні санітарні правила і норми», ДСТУ 2472-94 «Продукція парфумерно-косметична». Терміни та визначення, ДСТУ 4186:2003 «Засоби гігієни ротової порожнини рідкі», ДСТУ 4315:2004, «Засоби косметичні для

очищення шкіри та волосся», ДСТУ 4093-2002 «Лосьйони та тоніки косметичні, а також міждержавні стандарти, що встановлюють вимоги до косметичної продукції згідно Регламенту № 1223/2009 Європейського парламенту та Ради Євросоюзу "Про косметичну продукцію".

Альтернативні методи на основі оцінки токсичності з використанням короткочасної суспензійної культури клітин сперматозоїдів бика вже розроблені для наступних парфумерно-косметичних виробів: 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/394 від 29.01.2002р). Розроблений експрес-метод оцінки загальнотоксичної та шкірно-подразнюючої дій ПКП «in vitro» дозволяє проводити токсикологічні дослідження без тварин, використовуючи в якості тест-об'єктів клітини ссавців. Слід відзначити, що токсикологічний прогноз вказаного альтернативного методу за результатами досліджень близький до значимості токсикологічного прогнозу, одержаного в експерименті з використанням лабораторних тварин. Якщо за результатами досліджень альтернативним методом індекс токсичності знаходиться в інтервалі від 70 до 120%, то за ствердженням авторів публікацій [2, 3], досліджувана партія виробів не спричиняє загальнотоксичної або шкірно-подразнюючої дії і відповідає гігієнічним вимогам безпеки. Оцінювання результатів здійснюється шляхом порівняння одержаного значення індексу токсичності для дослідного зразка з допустимим інтервалом величин індексу токсичності (70-120%). Визначення сумарної рухомої активності сперматозоїдів проводиться в ізотонічних фільтратах (відповідно до вимог Методичних рекомендацій № 29 ФЦ/394 від 29.01.2002р.).

За результатами досліджень міжнародної програми МІЕС були проведені дослідження щодо відбору біологічних моделей. Вибір дослідників зупинився на рухливих клітинах ВРХ, які дуже чутливі до дії токсичних речовин і які еволюційно пристосовані до існування поза організмом. Інтегральними показниками їхнього фізіо-

логічного, біохімічного та морфологічного статусу є рухливість. Для створення альтернативних методів на основі оцінки цитотоксичності розробники використовують короткочасну суспензійну культуру клітин ссавців – сперматозоїди ВРХ [4, 5].

Слід відзначити, що для альтернативного методу використовується доступний, дешевий, стандартний біологічний матеріал. Для розробки алгоритму, який би свідчив про токсичну дію витяжки і міг бути прогнозом щодо її дії на цілісний організм. В експерименті дослідники аналізували одночасно дві групи даних і розраховували математичну залежність, за якою кореляція між цими групами була б максимальною. Оцінка токсичності парфумерно-косметичної продукції «In vitro» свідчить, що створення альтернативних методів базується на основі використання короткочасної суспензійної культури клітин ссавців.

У 2010 році Європейський Союз адаптував Директиву 2010/63/EU для захисту тварин, які використовуються в наукових цілях. Метою даної директиви було підсилити законодавчо та поліпшити благополуччя тварин, які використовуються для дослідів та тестування безпеки фармакологічної, косметичної та іншої продукції, а також введення до законодавства ЄС принципів 3Rs (REDUCE, REFINE, REPLACE, що означає – зменшувати, удосконалювати та замінювати) і умов використання тварин. Директива 2010/63/EU почала працювати з 1 січня 2013 року. Тестування косметичних засобів на тваринах в Євросоюзі заборонено з 2004 року, а в 2009 також і на їхніх інгредієнтах щодо виконання вимог Регламенту (ЄС) №1223/2009). Рух науковців спрямований, аби замінити експериментальні дослідження альтернативними методами, що сприятиме появі нових нормативних актів та ідеологічної основи для них. У 1959 році був створений ЕСVAM - Європейський центр з валідації методів тестування. Стаття 7 до директиви 2010/63/EU категорично забороняє використання для тестування лабораторних тварин, якщо існує інший науково-обґрунтований та схвалений метод, який забезпечує той же рівень інформації, що і експеримент з використанням тварин [6]. Повна законодавча заборона тестування косме-

тичних складових частин на тваринах може призвести до того, що засоби, які пройшли тестування на тваринах, можуть бути поза законом. А виробники змушені будуть видалити з виробу незаконний компонент, або його замінити [7]. Вказана заборона може також призвести до обмеження інноваційних продуктів (зокрема продуктів з УФ фільтрами, або протикарієсних паст).

Міжнародна коаліція захисту тварин прийняла міжнародний стандарт, який визначає основні критерії використання знаку «Not tested on animals». Недолік альтернативних методів полягає в тому, що культури тканин або клітинних ліній шкіри людини не завжди можуть замінити цілісний організм. Під час роботи з невеликим шматочком шкіри неможливо передбачити, якими будуть системні реакції.

Відомо, що шкіра людини складається із багатьох типів клітин і клітинних структур. Реакції клітини у цілісному організмі та в культурі не ідентичні. Це попередня оцінка, за якою можна зробити позитивні про-

гнози про те, що явна безпека для організму відсутня. Слід відзначити, що біоетична експертиза наукових проєктів, в яких передбачається використання тварин, ще не стала в нашій країні обов'язковою вимогою [8]. Це зумовлено певною мірою тим, що в Україні відсутні законодавчі акти, які б захищали лабораторних тварин. У теперішній час комітет і комісія з біоетики при президіях НАН та НАМН України здійснюють заходи, покликані забезпечити регламентацію дослідів на тваринах відповідно до принципів біоетики. Також потрібний консенсус між державними регулюючими органами та науковими закладами щодо належних процедур, а також контроль за відповідністю протоколів встановленим стандартам.

Ця робота має мету підготувати та прискорити прийняття законодавчих актів, оскільки Україна не може залишатися осторонь світового біоетичного руху, а накопичений досвід сприятиме прийняттю більш досконалих законів і нормативних документів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Федосеева Т.А. Оценка токсичности синтетических и моющих средств методом «In Vitro» на кратковременной суспензионной культуре – сперме быка / Т.А. Федосеева, Т.А. Меньшикова // Токсикологический вестник–2004. –№ 6. – С.17–19.
2. Еськов А.П. Авторское свидетельство № 168 635 52 на изобретение «Способ оценки токсичности полимерного материала» / А.П. Еськов, Р.И. Каюмов // 1991. – Бюл. С.39– 68
3. Еськов А.П. Токсикологические испытания. Альтернативные методы / А.П. Еськов, Р.И. Каюмов, А.Е. Соколов //Токсикологический вестник. – 2003. – №5. – С. 25.
4. Лаппо В.Г. Оценка местно-раздражающего действия мезиделий «In Vitro» на кратковременной суспензионной культуре подвижных клеток – сперме быка / В.Г. Лаппо, Н.М. Петрова, Р.И. Каюмов // Тезисы докладов 2-го съезда токсикологов России, М., МУ. – № 1.1.578-96. – Минздрав РФ, М., 2003.
5. Токсикологическая оценка индивидуальных химических соединений и смесей сложного состава с использованием подвижного клеточного тест-объекта / [Еськов А.П., Каюмов Р.И., Арефьева В.П., Лаппо Ю.С.] // Бюлетень экспериментальной биологии и медицины 2003. –№1. –С.48–50; 2003. – №5. –С. –25.
6. Биотестирование продукции из полимерных и других материалов. М. 1.1.037-95. М: Госкомнадзор РФ, 1996.
7. Альтернативні методи і тест-системи: Монографія / Трахтенберг І.М., Коваленко В.М., Кокшарева Н.В. [et al] – К.: Авіцена. – 2008. –272с.
8. Инструкция по токсикологической оценке полимерных материалов, применяемых в пищевой промышленности / №2395 – 81 – М, – 1984. – С. 17.

#### **АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ПАРФЮМЕРНО-КОСМЕТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ МЕТОДОМ «IN VITRO» НА КРАТКОВРЕМЕННОЙ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА (обзор литературы)**

*Т.Ф. Харченко, В.М. Левицкая, О.А.Харченко, Г.В.Головащенко,  
С.А. Хомак, С.С. Исаева*

*ГП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И. Медведя  
МЗ Украины», г. Киев, Украина.*

**РЕЗЮМЕ.** *Цель.* На основе литературных данных и директивной документации обобщены и изложены основные мотивы использования альтернативных методов для определения токсического действия парфюмерно-косметической продукции. **Методы исследования** - альтернативные методы на основе оценки токсичности с использованием кратковременной суспензионной культуры клеток сперматозоидов крупного рогатого скота. Токсикологический прогноз альтернативного метода по результатам исследований близок к значимости токсикологического прогноза, полученного в эксперименте с использованием лабораторных животных.

*Подвижность - интегральный показатель физиологического, биохимического и морфологического статуса кратковременной суспензионной культуры клеток млекопитающих.*

**Выводы.** Аргументация о введении альтернативных методов для определения токсического действия парфюмерно-косметической продукции (ПКП) направлена на гуманное отношение к животным, а также на уменьшение стоимости и сокращение времени проведения исследований.

**Ключевые слова:** токсичность, парфюмерно-косметическая продукция, альтернативные методы, сперматозоиды

**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)**

T. Kharchenko, V. Levytska, O. Kharchenko, H. Holovashchenko,  
S. Khomak, S. Isaieva

State Enterprise "L. I. Medved's Research Center of Preventive  
Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health of Ukraine", Kyiv, Ukraine

**RESUME. Introduction.** Based on the literature data and directive documentation, the main reasons for the use of alternative methods for determining the toxic effects of perfume and beauty products are set out.

**Methods** - alternative methods based on toxicity assessment using short-term suspension culture of cells of cattle spermatozoa. The toxicological prognosis of the alternative method according to the results of studies is close to the significance of the toxicological prognosis obtained in the experiment with the use of laboratory animals. Mobility is an integral parameter of the physiological, biochemical and morphological status of the short-term suspension culture of mammal cells cattle spermatozoa.

**Conclusion.** The argument for the implementation of alternative methods for determining the toxic effect of perfume and beauty products (PBPs) is aimed at the humane attitude towards animals, as well as reducing costs and reducing the time spent on the study.

**Key words:** toxicity, perfume and beauty products, alternative methods, spermatozoa, cattle.

Надійшла до редакції 5.06.2018 р.