Streszczenie

Analiza porównawcza metod oceny potencjału drażniącego i uczulającego składników kosmetyków w kontekście zakazu badań na zwierzętach.

Ocenia się, że 13-60% kobiet oraz 5-40% mężczyzn doświadczyło niepożądanych reakcji po zastosowaniu kosmetyków. W testach płatkowych przynajmniej jeden dodatni odczyn na składniki kosmetyków odnotowano u 25% kobiet oraz 18% mężczyzn. Oprócz kosmetyków, reakcje niepożądane mogą powodować również leki do stosowania zewnętrznego, które często mają wspólne właściwości z kosmetykami np. sposób aplikacji na skórę, takie same składniki podłoża lub postać produktu (krem, emulsja itp.). Wśród skórnych reakcji niepożądanych wywołanych przez kosmetyki lub leki dominują reakcje alergiczne *(ang. Allergic Contact Dermatitis, ACD)* oraz z podrażnienia *(ang. Irritant Contact Dermatitis, ICD).* Mając powyższe na uwadze stwierdzić można, że stosowanie kosmetyków niesie za sobą realne ryzyko dla zdrowia. Nasuwa się zatem pytanie, jakie cechy powinien posiadać bezpieczny kosmetyk oraz jak sprawdzić czy dany kosmetyk jest bezpieczny? Przed 2004 rokiem bezpieczeństwo kosmetyków badano testując składniki oraz gotowe produkty na zwierzętach – do najczęściej przeprowadzanych testów należały test Draize'a, Bühlera, GPMT oraz LLNA. Jednak, odkąd w 2004 roku wszedł w życie całkowity zakaz testowania składników i produktów kosmetycznych na zwierzętach, jedynymi zatwierdzonymi w Unii Europejskiej metodami testowania kosmetyków i ich składników są testy in vitro. W ocenie cech drażniących in vitro wykorzystuje się test MTT oraz hodowle dwu- i trójwymiarowe (substytuty naskórka, skóry właściwej lub pełnej skóry). Do oceny cech uczulających in vitro stosuje się testy DPRA, h-CLAT, MUSST, KeratinoSens oraz LuSens. Ponieważ opisane modele in vitro mogą znacznie różnić się od żywych tkanek funkcjonalnego organizmu i opierają się na szeregu arbitralnych założeń nasuwa się pytanie czy opisane metody in vitro wiarygodnie odzwierciedlają procesy zachodzące w znacznie bardziej złożonym ludzkim organizmie oraz czy są one tak samo miarodajne, jak wcześniej stosowane badania na ludziach i zwierzętach.

Cel pracy: Celem głównym niniejszej pracy była analiza wiarygodności dostępnych metod in vitro w ocenie bezpieczeństwa kosmetyków w warunkach obowiązującego w Unii Europejskiej zakazu testów na zwierzętach. Celem dodatkowym było opracowanie i ocena skuteczności modelu in silico jako możliwej metody alternatywnej oceny potencjału drażniącego i uczulającego.

Materiał i metody: Praca została wykonana w 4 etapach polegających na:

- ustaleniu listy składników kosmetyków i leków o działaniu potencjalnie drażniącym lub uczulającym,
- analizie wyników opublikowanych badań na ludziach, zwierzętach i in vitro w odniesieniu do działania drażniącego,
- analizie wyników opublikowanych badań na ludziach, zwierzętach i in vitro w odniesieniu do działania uczulającego.

Ostatnim etapem pracy była budowa modelu matematycznego (in silico) do przewidywania działania uczulającego składników kosmetyków i leków. Model in silico został opracowany przy użyciu oprogramowania WEKA – zbioru algorytmów uczenia maszynowego do eksploracji danych. Został on przeszkolony na podstawie danych z opublikowanych badań epidemiologicznych zarówno u pacjentów z ACD, jak i populacji ogólnej, zestawionych w postaci wskaźników eOR (szacowany iloraz szans) i eAR (szacowane przypisane ryzyko). Obliczone wskaźniki posłużyły jako zbiór danych dydaktycznych dla zaprojektowanego modelu matematycznego. Wyniki porównano z wynikami opublikowanych badań na zwierzętach i testów in vitro.

Wyniki: Zidentyfikowano łącznie 78 substancji kosmetycznych oraz leków do stosowania zewnętrznego. Do zbioru uczącego modelu in silico opartego na indeksie eOR zakwalifikowano 38 substancji, natomiast zbiór uczący oparty na indeksie eAR składał się z 40 substancji. W przypadku modelu in silico opartego na indeksie eOR najlepsze wyniki uzyskano dla modelu modułowego (RandomComitte) wyszkolonego przy użyciu 17 deskryptorów w wektorze wejściowym, z dokładnością 77%, czułością 71% i swoistością 85%. Dla modelu in silico opartego na indeksie eAR najlepsze wyniki uzyskano dla modelu Naive Bayes wytrenowanego z 9 deskryptorami jako wektorem wejściowym - tutaj dokładność wyniosła 86%, czułość 80%, a swoistość 90%. Wyższą korelację między właściwościami chemicznymi cząsteczek a potencjałem uczulającym stwierdzono dla modeli in silico opartych na indeksie eAR.

Wnioski:

1. Dostępne dane nie są wystarczające do stworzenia modelu in silico, który oceniałby potencjał drażniący składników kosmetyków i leków.
2. Zaproponowany w niniejszej pracy model in silico pozwala przewidzieć działanie uczulające składników kosmetyków z dokładnością porównywalną do historycznie przeprowadzanych testów na zwierzętach oraz aktualnie stosowanych testów in vitro.
3. Modele in silico wydają się obiecującą alternatywą badań w ocenie potencjału uczulającego składników kosmetyków i leków do stosowania zewnętrznego.

Słowa kluczowe: kosmetyki, działanie drażniące, alergia kontaktowa, ocena ryzyka, sztuczna inteligencja

Abstract

Comparative analysis of methods for assessing the irritant and allergic potential of cosmetic ingredients in the context of the ban on animal testing.

It is estimated that about 13-60% of women and 5-40% of men experienced adverse reactions to cosmetics. In patch tests 25% of women and 18% of men had at least one positive reaction to cosmetic ingredients. Apart from cosmetics, side effects can also be caused by drugs for external use which often have common properties with cosmetics, e.g. methods of application on the skin, the same base of ingredients or form of the product (cream, emulsion, etc.). Allergic contact dermatitis (ACD) and Irritant Contact Dermatitis (ICD) reactions dominate among skin adverse reactions caused by cosmetics or medications. Given the above, a question arises what qualities should a safe cosmetics possess and how to check the safety of a cosmetic product? Before 2004, cosmetics and their ingredients had been tested on animals. The most popular tests on animals were Draize test, Bühler test, GPMT and LLNA. Since the total ban on testing cosmetic ingredients and products on animals has come into force in 2004, the only methods approved in the EU for testing cosmetics and their ingredients have been in vitro tests. In the assessment of in vitro irritating potential the MTT test, two- and three-dimensional cultures (epidermis, dermal or full skin substitutes) are used. In the assessment of in vitro sensitizing potential the DPRA, h-CLAT, MUSST, KeratinoSens and LuSens tests are used. Whether the described in vitro methods accurately and reliably reflect processes occurring in a much more complex system of the human body and whether they are as reliable or superior to the previously used tests in humans and animals remains a matter for debate, moreover, they consume relevant resources.

Aim of the study: The main goal of this study was to analyse the reliability of the available in vitro methods in the safety assessment of cosmetics in the conditions of the prohibition of animal testing in the European Union. An additional goal was to develop and evaluate the effectiveness of an in silico model as a possible alternative method for assessing irritation and sensitization potential.

Material and methods: This study was carried out in 4 stages consisting of:

- establishing a list of cosmetic and drug ingredients with irritating or sensitizing potential effect,
- analysing the results of published data on humans, animals and in vitro for irritating potential,

- analysing the results of published data on humans, animals and in vitro studies for sensitizing potential.

The final step was to build a mathematical model (in silico) to predict the sensitizing effects of cosmetic and drug ingredients. A mathematical (in silico) model was developed with the use of WEKA software – a collection of machine learning algorithms for data mining. The model was trained with data from published epidemiological studies both in patients with ACD and the general population, compiled into eOR (estimated odds ratio) and eAR (estimated attributable risk) indexes. The calculated indexes served as the teaching dataset for the designed mathematical model. The outcome was compared with results from published animal studies and vitro tests.

Results: A total of 78 cosmetic substances and drugs for external use were identified. 38 substances were qualified for the in silico training set based on the eOR index, while the eAR training set consisted of 40 substances. Epidemiological data sufficient for the calculation of eOR and eAR values were available for 53 substances. For the in silico classification system trained with eOR, the best results were obtained for a modular model (RandomComittee) trained using 17 descriptors in the input vector, with the accuracy of 77%, sensitivity 71%, and specificity 85%. For in silico system trained with eAR, best results were obtained for the Naive Bayes model trained with 9 descriptors as the input vector - here, the accuracy was 86%, sensitivity 80% and specificity 90%. A higher correlation between the chemical properties of the molecules and the sensitization potential was found for in silico model based on the eAR index.

Conclusions:

1. The available data are not sufficient to create an in silico model that would assess the irritating potential of cosmetic and drug ingredients.
2. The in silico model proposed in this study allows to predict the sensitizing effect of cosmetic ingredients with an accuracy comparable to historical animal tests and current in vitro tests.
3. In silico models seem to be a promising alternative to research in assessing the sensitizing potential of cosmetic ingredients and drugs for external application.

Key words: cosmetics, irritant potential, contact allergy, risk assessment, artificial intelligence