



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΠΡΟΝΟΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΑΙΣΘΗΤΙΚΗΣ & ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑΣ

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΤΗΝ ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ
ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΙΩΑΝΝΑ ΚΟΥΡΟΥ

ΑΜ: 637 16007

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΑΘΑΝΑΣΙΑ ΒΑΡΒΑΡΕΣΟΥ

**ΤΙΤΛΟΣ: Καθηγήτρια Κοσμητολογίας- Διευθύντρια Τομέα
Αισθητικής και Κοσμητολογίας**

ΑΘΗΝΑ 2021



UNIVERSITY OF WEST ATTICA
FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES
DIVISION OF AESTHETICS AND COSMETIC SCIENCE

**IN SILICO METHODS AS TOOLS IN RESEARCH AND
DEVELOPMENT OF COSMETIC PRODUCTS**

DISSERTATION

NAME: IOANNA KOUROU

Candidate Number: 637 16007

SUPERVISOR: ATHANASIA VARVARESOU

**TITLE: Professor in Cosmetic Science – Director of the
Department of Aesthetics and Cosmetic Science**

ATHENS 2021

Εξεταστική Επιτροπή

ΒΑΡΒΑΡΕΣΟΥ

ΑΘΑΝΑΣΙΑ

ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ

ΣΠΥΡΙΔΩΝ

ΠΑΥΛΟΥ

ΠΑΝΑΓΟΥΛΑ

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Ιωάννα Κούρου του Αλεξάνδρου, με αριθμό μητρώου 63716007 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Αισθητικής και Κοσμητολογίας του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

Κούρου Ιωάννα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία με τίτλο «Υπολογιστικές μέθοδοι στην έρευνα και ανάπτυξη καλλυντικών προϊόντων» εκπονήθηκε στα πλαίσια του τέταρτου έτους των προπτυχιακών σπουδών μου στο τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, του τομέα Αισθητικής και Κοσμητολογίας, του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής. Κατά το ακαδημαϊκό έτος 2020 – 2021 συνεργάστηκα με την καθηγήτρια και διευθύντρια του τομέα μου Αθανασία Βαρβαρέσου, την οποία θα ήθελα να ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αλλά και για την πολύτιμη βοήθειά της.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές μου που με βοήθησαν να εξελιχθώ κατά τη διάρκεια της φοίτησής μου αλλά και τους δικούς μου ανθρώπους για την κατανόηση και τη στήριξη κατά τη διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	I
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	III
ABSTRACT	IV
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	- 1 -
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	- 2 -
1. Ιστορική αναδρομή.....	- 2 -
2. Καλλυντικά προϊόντα – τμήμα Έρευνας & Ανάπτυξης	- 3 -
2.1 Ορισμός καλλυντικών προϊόντων.....	- 3 -
2.2 Τμήμα Έρευνας & Ανάπτυξης (R&D)	- 5 -
3. Υπολογιστικές (in silico) μελέτες – Ορισμός.....	- 6 -
4. Στοιχεία ανατομικής & φυσιολογίας του δέρματος.....	- 7 -
4.1 Απορρόφηση συστατικών από το δέρμα.....	- 8 -
4.2 Μεταβολισμός δέρματος.....	- 9 -
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	- 11 -
5. Ποια είναι τα υπολογιστικά (in silico) εργαλεία.....	- 11 -
5.1 Μοντέλα QSAR.....	- 12 -
5.2 Ομαδοποίηση	- 14 -
5.3 Βιοκινητικά μοντέλα PBTK (Physiologically Based Toxicokinetic Modeling).....	- 15 -
6. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα in silico εργαλείων.....	- 16 -
7. Ιδιότητες ADME(T).....	- 18 -
8. In silico προβλέψεις στη βιομηχανία καλλυντικών για:	- 19 -
8.1 Τοξικότητα.....	- 19 -
8.1.1 Κοινές δοκιμασίες για αξιολόγηση τοξικότητας	- 20 -
8.1.2 In silico μελέτη για την πρόβλεψη τοξικότητας στα καλλυντικά	- 21 -
8.2 Αλλεργίες.....	- 23 -
8.2.1 Τροφοδότηση αλλεργιών από ορισμένα καλλυντικά.....	- 23 -
8.2.2 Κοινές δοκιμασίες για την πρόβλεψη αλλεργιών.....	- 24 -
8.2.3 In silico πρόβλεψη αλλεργιών που οφείλονται σε καλλυντικά.....	- 25 -
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	- 28 -
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	- 29 -
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	- 32 -
ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	- 33 -

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία με τίτλο «Υπολογιστικές μέθοδοι στην έρευνα και ανάπτυξη καλλυντικών προϊόντων» έχει ως αντικείμενο την μελέτη ορισμένων εναλλακτικών εργαλείων, που μέσω του υπολογιστή μπορούν να συμβάλλουν στη διαδικασία έρευνας και ανάπτυξης ενός νέου καλλυντικού ή ενός νέου συστατικού ή στην πρόβλεψη ορισμένων ανεπιθύμητων ενεργειών π.χ. τοξικότητας.

Σκοπός αυτού του έργου, είναι να πληροφορήσει τον αναγνώστη για την πιο σύγχρονη μορφή έρευνας στη βιομηχανία των καλλυντικών αλλά και για τη δύναμη της τεχνολογίας στις μέρες μας, η οποία εάν χρησιμοποιηθεί σωστά από τους επιστήμονες, μπορεί να εξαλείψει κάθε πειραματική δοκιμή σε ζώα δίνοντας τα ίδια ή και καλύτερα ερευνητικά αποτελέσματα.

Στο γενικό μέρος της εργασίας μου, γίνεται μία σύντομη ιστορική αναδρομή στα καλλυντικά, ενώ συγχρόνως δίνονται ορισμοί απαραίτητοι για την κατανόηση του περιεχομένου που ακολουθεί. Επιπλέον, αναφέρονται ορισμένα στοιχεία για τη φυσιολογία και τον τρόπο λειτουργίας του δέρματος, έτσι ώστε ο αναγνώστης να κατανοήσει, ότι προτίστως στην παρασκευή ενός καλλυντικού μελετάται το πώς αυτό θα αντιδράσει μόλις έρθει σε επαφή με το δέρμα.

Στη συνέχεια, γίνεται ανάλυση συγκεκριμένων υπολογιστικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται κυρίως σε φαρμακευτικές έρευνες, ωστόσο έχουν αρχίσει να γνωστοποιούνται και στις βιομηχανίες καλλυντικών. Απαριθμούνται τα πλεονεκτήματα αλλά και τα μειονεκτήματα αυτού του σύγχρονου εργαλείου αλλά και οι τρόποι με τους οποίους μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προβλέψει καταστάσεις τοξικότητας ή/και αλλεργιών. Παράλληλα αναπτύσσονται και οι μη εναλλακτικές μέθοδοι πρόβλεψης των παραπάνω, έτσι ώστε ο αναγνώστης να μπορέσει να συγκρίνει τις τεχνικές μεταξύ τους και να βγάλει τα δικά του συμπεράσματα.

Τέλος, παραθέτω τα συμπεράσματα και τη γνώμη μου, τονίζοντας την αναγκαιότητα εξέλιξης των σύγχρονων, εναλλακτικών μεθόδων στην έρευνα και ανάπτυξη καλλυντικών προϊόντων.

Λέξεις κλειδιά: in silico, καλλυντικό, έρευνα, ανάπτυξη.

ABSTRACT

The dissertation that follows, with title “In silico methods as tools in research and development of cosmetic products” has as main object the study of some alternative tools, that through computer or computerized environment, they can contribute in the process of research and development of new cosmetics or new ingredients or in the prediction of certain side effects, such as toxicity.

The purpose of this project is to inform the reader about the most contemporary form of research in the cosmetics industry, but also about the power of technology nowadays, to eliminate any animal experimentation, if handled properly by scientists. Furthermore, the outcome will be giving same or even better research results.

In the beginning of my study, there is a brief historical review of cosmetic products and some necessary definitions are given, in order for the reader to have a clearer understanding on the following content. Moving on, some facts about the physiology and function of the skin are mentioned, so the reader can fully comprehend that the number one priority on the cosmetic research, is the reaction results between the skin and the product.

Moreover, an analysis has been made on specific computer methods, that are mainly used in pharmaceutical research. Note that the cosmetics industry has already start to implement those methods as well. The advantages and disadvantages of this “new” tool are listed, as well as the ways it can be used to predict toxicity and/or allergy cases. At the same time, the non – alternative methods of prediction of the above mentioned, are developed, so that the reader can compare the techniques with each other and come to his own conclusion.

At the end of the dissertation, my conclusions can be found, highlighting the need on developing modern and alternative methods in the research and development departments of cosmetic products.

Keywords: in silico, cosmetics, research, development.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην παρούσα εργασία αναλύεται ένα σύγχρονο εργαλείο που μπορεί να λύσει πολλά ζητήματα σε κάθε τμήμα έρευνας και ανάπτυξης καλλυντικών προϊόντων. Πρόκειται για τα υπολογιστικά ή αλλιώς «in silico» εργαλεία με τα οποία μπορεί κανείς να προσομειάσει ορισμένες καταστάσεις, ηλεκτρονικά σε τρισδιάστατη δομή και να προβλέψει τυχόν ανεπιθύμητες αντιδράσεις από ένα καλλυντικό προϊόν ή από κάποια πρώτη ύλη που περιέχεται σε ένα καλλυντικό προϊόν.

Σκοπός της εργασίας αυτής, είναι να πληροφορήσει τον αναγνώστη για την πιο σύγχρονη ερευνητική μορφή στη βιομηχανία των καλλυντικών αλλά και για τη δύναμη της τεχνολογίας στις μέρες μας η οποία με τη σωστή χρήση μπορεί μακροπρόθεσμα να αντικαταστήσει ακόμη και τα πειράματα σε ζωντανούς οργανισμούς.

Αποτελείται από δύο μέρη, το γενικό και το ειδικό. Στο πρώτο αναγράφονται στοιχεία που συμβάλλουν στην καλύτερη κατανόηση του δεύτερου και πιο εξειδικευμένου μέρους. Πιο συγκεκριμένα, το γενικό μέρος της εργασίας αυτής, περιλαμβάνει την ιστορική αναδρομή, τους ορισμούς του καλλυντικού, του τμήματος έρευνας και ανάπτυξης καθώς και των in silico μελετών. Εκτός αυτού γίνεται και μία σύντομη αναφορά στον τρόπο λειτουργίας του δέρματος καθώς επηρεάζει άμεσα την δράση όλων των καλλυντικών σκευασμάτων. Το ειδικό μέρος της εργασίας, επιδιώκει να γνωστοποιήσει στον αναγνώστη τις κατηγορίες των in silico εργαλείων καθώς και τους λόγους που είναι ωφέλιμη η ανάπτυξή τους. Αναλύονται κάποια από τα προγράμματα που χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη τοξικότητας ή/και αλλεργιών μέσω in silico μελετών αλλά και οι κοινοί – πιο διαδεδομένοι τρόποι πρόβλεψης αυτών.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ιστορική αναδρομή

Τα καλλυντικά προϊόντα είναι μία από τις σημαντικότερες ανακαλύψεις στη ζωή του ανθρώπου, που χρονολογείται από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα και βρίσκεται διαρκώς υπό εξέλιξη. Τα υλικά αλλά και η εφαρμογή τους ήταν γνωστά ακόμη και σε πρωτόγονους πολιτισμούς πριν από χιλιάδες χρόνια. Το πρώτο καλλυντικό φαίνεται να είναι το κόκκινο οξείδιο του σιδήρου, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τις απολυμαντικές, αντηλιακές και αποσμητικές του ιδιότητες (Τσιγώνια & Μικελάτου, 2010). Τα πρώτα αρχαιολογικά ευρήματα για την ύπαρξη καλλυντικών προϊόντων βρέθηκαν στην Αίγυπτο γύρω στο 3.500 π.Χ. Φαίνεται ότι οι πρώτοι που τα χρησιμοποίησαν στην καθημερινότητά τους για λόγους υγείας αλλά και για θρησκευτικούς σκοπούς ήταν οι Αιγύπτιοι, καθώς είχαν στην κατοχή τους συνταγή κρέμας για την αντιμετώπιση των ρυτίδων. Στη συνέχεια, χρησιμοποίησαν καλλυντικά τόσο οι Πέρσες όσο και οι Βαβυλώνιοι οι οποίοι γνώριζαν κυρίως τα αρώματα. Εκτός αυτών όμως, αρκετές συνταγές κυρίως με χρήση άγριων φυτών, βοτάνων, φυτικών ελαίων κ.τ.λ. είχαν αναπτυχθεί και στην Αρχαία Ελλάδα. Οι Αρχαίες Ελληνίδες χρησιμοποιούσαν μάλιστα κρέμες για να ασπρίσουν τα μαγουλά τους ενώ ανακάτευαν πούδρες και αιθέρια έλαια με χρωστικές φυτικής ή ορυκτής προέλευσης προσδίδοντας στα καλλυντικά τους ποικιλία χρωμάτων, όπως άσπρο, κόκκινο ή μαύρο ανάλογα με τις ικανότητές τους. Καλλυντικά προϊόντα χρησιμοποιήθηκαν και από τους Ρωμαίους, τους Εβραίους αλλά και στο Βυζάντιο. Κατά τον Μεσαίωνα η χρήση των καλλυντικών είχε περιοριστεί κυρίως στην αριστοκρατία όμως μεταξύ 16^{ου} και 19^{ου} αιώνα οι Ευρωπαίοι άρχισαν να αναπτύσσουν τον κλάδο των καλλυντικών χρησιμοποιώντας συνταγές εμπνευσμένες από τις ανατολικές χώρες. Τον 20^ο αιώνα, η εξέλιξη του κλάδου των καλλυντικών είναι αλματώδης. Αρχικά με περιορισμένες ιδιωτικές επιχειρήσεις και αργότερα με τυποποιημένα και βιομηχανοποιημένα προϊόντα, τα καλλυντικά αρχίζουν να χρησιμοποιούνται ευρέως παρά το γεγονός ότι κατά καιρούς οι διάφορες «συνταγές» προκαλούσαν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες που μπορούσαν να πάρουν ακόμη και επιδημική μορφή όπως συνέβη στην Ιταλία τον 17^ο αιώνα από το αρσενικό που περιεχόταν στις κρέμες. Από το 1908 ξεκινά ο συστηματικός έλεγχος των καλλυντικών σε όλα τα κράτη της Ευρώπης. Ο κλάδος της Κοσμητολογίας οργανώνεται σταδιακά σε επιστήμη χρησιμοποιώντας αρχικά φυσικές και εμπειρικές μεθόδους ενώ από το 1946 και μετά εντάσσεται στα εκπαιδευτικά προγράμματα Πανεπιστημιακών Σχολών. Σήμερα, η

περιποίηση των γυναικών είναι πιο ουσιαστική, οι γυναίκες χρησιμοποιούν σύγχρονα καλλυντικά εξειδικευμένα στις ανάγκες τους, μάσκες, αιθέρια έλαια, πλήθος θεραπειών (π.χ. αρωματοθεραπεία, θαλασσοθεραπεία, λασποθεραπεία) αλλά και σύγχρονα μηχανήματα. Η βιομηχανία των καλλυντικών διαρκώς εξελίσσεται και βελτιώνεται. Ο ποιοτικός έλεγχος με τη χρήση εξειδικευμένων μεθόδων ενόργανης ανάλυσης για τη σταθερότητα των κοσμητικών συστατικών και την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των τοξικών προσμίξεων, ο έλεγχος της ασφάλειας χρήσης και των ανεπιθύμητων ενεργειών, η καλλυντικοεπαγρύπνηση αποτελούν τομείς του γνωστικού πεδίου της Επιστήμης των καλλυντικών που έχουν λάβει μεγάλη ανάπτυξη και αποτελούν σημαντικά σημεία του νομοθετικού πλαισίου. Επιπλέον σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Επιτροπής έχουν περιορισθεί για πολύ συγκεκριμένες και αναγκαίες περιπτώσεις τα πειράματα σε ζώα και ένας νέος στόχος των βιομηχανιών είναι η αντικατάστασή τους με εναλλακτικές πειραματικές μελέτες όπως οι *in silico* (υπολογιστικές) μελέτες οι οποίες θα αναφερθούν στη συνέχεια της εργασίας.

2. Καλλυντικά προϊόντα – τμήμα Έρευνας & Ανάπτυξης

2.1 Ορισμός καλλυντικών προϊόντων

Με τον όρο καλλυντικό νοείται οποιαδήποτε ουσία ή παρασκεύασμα προορίζεται να έρθει σε επαφή με τα επιφανειακά μέρη του ανθρώπινου σώματος (επιδερμίδα, τριχωτά μέρη, νύχια, χείλη) ή με τα δόντια και τη στοματική κοιλότητα με αποκλειστικό ή κύριο σκοπό τον καθαρισμό, αρωματισμό και την προστασία, τη διατήρησή τους σε καλή κατάσταση, τη μεταβολή της εμφάνισής τους ή τη διόρθωση σωματικών οσμών. Ο παραπάνω ορισμός έχει προταθεί από την Ευρωπαϊκή Οικονομική Επιτροπή (Ε.Ο.Κ.) και έχει γίνει αποδεκτός από τα κράτη – μέλη της Ευρωπαϊκής Κοινότητας. Βάσει του κανονισμού 1223/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 30^{ης} Νοεμβρίου 2009 για τα καλλυντικά προϊόντα, η εκτίμηση με βάση την οποία αποφασίζεται εάν ένα προϊόν είναι καλλυντικό, πρέπει να γίνεται κατά περίπτωση, λαμβάνοντας υπόψη όλα τα χαρακτηριστικά του προϊόντος.

Σύμφωνα με την κατάταξη της COLIPA (The European Cosmetic and Perfumery Association), τα προϊόντα του κλάδου των καλλυντικών κατατάσσονται ως εξής:

➤ **Προϊόντα περιποίησης προσώπου**

1. Προϊόντα καθαρισμού προσώπου (τζελ, peeling).
2. Προϊόντα καθαρισμού ματιών.
3. Τονωτικές λοσιόν.
4. Κρέμες και μάσκες προσώπου.
5. Ειδικά προϊόντα αμτιγήρανσης και κατά των ρυτίδων.
6. Ειδικά προϊόντα για δέρματα με προβλήματα.
7. Προϊόντα περιποίησης χειλιών.

➤ **Προϊόντα περιποίησης σώματος**

1. Γαλακτώματα, λοσιόν, λάδια.
2. Κρέμες σώματος γενικής χρήσης.
3. Ειδικές κρέμες χεριών.
4. Ειδικά προϊόντα περιποίησης ποδιών.
5. Προϊόντα κατά της κυτταρίτιδας.
6. Ειδικά προϊόντα σώματος (σύσφιξης, καταπολέμησης ραγάδων κ.α.).

➤ **Προϊόντα περιποίησης μαλλιών**

1. Σαμπουάν
2. Μαλακτικά προϊόντα μαλλιών (Conditioner)
3. Σπρέυ μαλλιών (π.χ. για σταθεροποίηση χτενίσματος).
4. Προϊόντα φορμαρίσματος των μαλλιών (π.χ. αφροί, γέλες, κεριά, πομάδες).
5. Οξειδωτικά μόνιμα χρωστικά με ή χωρίς αμμωνία.
6. Μη οξειδωτικά χρωστικά, ημιμόνιμα και στιγμιαία χωρίς αμμωνία.
7. Προϊόντα χημικού ισιώματος.

➤ **Προϊόντα ατομικής υγιεινής**

1. Υγιεινή στόματος.
2. Αφρόλουτρα.
3. Αποσμητικά και αντιδρωτικά.
4. Προϊόντα ξυρίσματος
5. Αποτριχωτικά.
6. Πούδρες σώματος

7. Οδοντόκρεμες.

➤ **Αρωματικά προϊόντα**

➤ **Προϊόντα μακιγιάζ**

1. Προσώπου (make-up, πούδρες, ρουζ).
2. Ματιών (σκιές, μολύβια, μάσκαρα, eye – liner).
3. Χειλιών (κραγιόν, μολύβια, lip – gloss).
4. Νυχιών (βερνίκια, σκληρυντικά).

➤ **Αντηλιακά / Για μετά τον ήλιο προϊόντα**

1. Αντηλιακά προσώπου.
2. Αντηλιακά σώματος.
3. Αντηλιακά μαλλιών.
4. Βρεφικά – παιδικά αντηλιακά.
5. Ενυδατικά προϊόντα για μετά τον ήλιο (after – sun).

2.2 Τμήμα Έρευνας & Ανάπτυξης (R&D)

Οι φρενήρεις ρυθμοί με τους οποίους εξελίσσονται οι βιομηχανίες καλλυντικών στις μέρες μας, η ανάπτυξη της τεχνολογίας και κατ' επέκταση το πλήθος των καλλυντικών προϊόντων, ανεβάζουν τον πήχη στις επιθυμίες των καταναλωτών. Για να ξεχωρίσει ένα νέο προϊόν στις μέρες μας θα πρέπει να είναι καινοτόμο και αποτελεσματικό.

Έτσι το τμήμα έρευνας και ανάπτυξης που αποτελεί αυτόνομο τμήμα στις επιχειρήσεις έρχεται να καλύψει αυτή την ανάγκη μέσω ερευνών αφού βρει τη χρυσή τομή μεταξύ:

- Των αναγκών του καταναλωτή.
- Την ανάγκη του μάρκετινγκ τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο για νέα προϊόντα.
- Των δυνατοτήτων που του προσφέρει η επιστήμη.
- Της ισχύουσας νομοθεσίας και των περιορισμών.
- Το κόστος παραγωγής και πρώτων υλών.

Όλοι οι παράμετροι που πρέπει να ληφθούν υπόψη από το R&D, μεταβάλλονται λίγο ή πολύ ενώ μερικοί από αυτούς εξαρτώνται από τις τάσεις της εποχής. Π.χ. για το έτος 2016 που τα αποκαλούμενα «Hot Συστατικά» ήταν τα εκχυλίσματα, το υαλουρονικό οξύ και τα συστατικά

που προέρχονται από το θαλάσσιο κόσμο, παρατηρήθηκε ότι οι περισσότερες βιομηχανίες προωθούσαν τα προϊόντα τους εστιάζοντας σε κάποιο από τα παραπάνω συστατικά (Μουντρίχας, 2016).

Παρατηρείται, ότι ενώ το R&D διαφέρει από το τμήμα των πωλήσεων και του μάρκετινγκ, είναι αναγκαία η στενή συνεργασία τους για την επίτευξη του βέλτιστου αποτελέσματος. Το τμήμα αυτό στην ουσία είναι το μέσο των εταιρειών για μελλοντική ανάπτυξη και γι αυτό η δαπάνη πόρων για έρευνα και δοκιμή είναι μεγάλη. Στόχος του είναι να αναπτύξει νέα προϊόντα αλλά και νέους τρόπους υλοποίησης ορισμένων διαδικασιών.

3. Υπολογιστικές (in silico) μελέτες – Ορισμός.

Ο χαρακτηρισμός in silico προέκυψε από τις ήδη γνωστές φράσεις in vivo και in vitro για να περιγράψει μία διαδικασία που εκτελείται στον υπολογιστή ή υλοποιείται μέσω προσομοίωσης σε αυτόν. Οι in silico ή αλλιώς υπολογιστικές προσεγγίσεις αποτελούν ένα διαρκώς εξελισσόμενο τομέα με μεγάλες δυνατότητες κυρίως στην τοξικολογία αλλά και σε άλλους τομείς που θα αναφερθούν στη συνέχεια. Όταν δεν μπορούν να διεξαχθούν μελέτες in vivo ή όταν υπάρχουν διαθέσιμα ανεπαρκή δεδομένα, η τοξικοκινητική μιας ουσίας μπορεί να προβλεφθεί με βάση μελέτες in vitro ή in silico. Οι παράγοντες που οδήγησαν στην προώθηση και την ανάπτυξη των in silico μεθόδων ήταν κυρίως οι εξής:

1. Οι απαιτήσεις για τη μείωση των δοκιμών σε ζώα στον κανονισμό REACH και σε παρόμοιους νόμους σε όλο τον κόσμο.
2. Η ταχεία τεχνολογική πρόοδος.
3. Τα οικονομικά κίνητρα.

Οι in silico, προσεγγίσεις αναφέρονται ολοένα και περισσότερο στα ρυθμιστικά πλαίσια ως τρόποι για την εκπλήρωση απαιτήσεων δεδομένων χωρίς την ανάγκη χρήσης μεθόδων in vivo ή in vitro γι' αυτό αποκαλούνται μη δοκιμαστικές ή και εναλλακτικές μέθοδοι. Στην πράξη βέβαια λειτουργούν συνδυαστικά με τις κλασσικές μεθόδους καθώς ακόμη δεν έχει αποδειχτεί πλήρως η αξιοπιστία τους σε όλα τα είδη πειραματικών προσεγγίσεων.

4. Στοιχεία ανατομικής & φυσιολογίας του δέρματος

Το δέρμα, αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου οργανισμού καθώς καλύπτει επιφάνεια 2 τετραγωνικών μέτρων και έχει βάρος περίπου 4 κιλά (Ράλλης, 2018). Το ανθρώπινο δέρμα εκτίθεται διαρκώς σε πλήθος διαφορετικών χημικών ουσιών που υπάρχουν στο περιβάλλον, στο σπίτι, στο χώρο εργασίας ή στα προϊόντα που εφαρμόζονται απευθείας πάνω στην επιφάνεια δέρματος. Οι χημικές ουσίες που είναι υπεύθυνες για την τυχαία έκθεση, περιλαμβάνουν βιομηχανικά χημικά, ρύπους, οικιακά ή βιομηχανικά προϊόντα καθαρισμού και αρωματισμού, ενώ η εκούσια έκθεση του δέρματος εμφανίζεται ως αποτέλεσμα της εφαρμογής καλλυντικών προϊόντων ή τοπικών φαρμακευτικών σκευασμάτων (Madden, et al., 2017). Το γεγονός ότι το δέρμα αποτελεί το μέσο επικοινωνίας του ανθρώπου με το περιβάλλον, καθιστά αναγκαία μία σύντομη αναφορά στην ανατομία του καθώς αυτή συνδέεται άμεσα ή έμμεσα με τη χρήση καλλυντικών προϊόντων.

Το δέρμα αποτελείται από έξω προς τα μέσα από την επιδερμίδα, το χόριο ή κυρίως δέρμα, το υπόδερμα και τα εξαρτήματα. Ως λειτουργικό όργανο, οι ρόλοι του ποικίλουν και εκτός από την προστασία από εξωγενείς φυσικούς ή χημικούς παράγοντες και την αλληλεπίδραση με το περιβάλλον, συμβάλλει σε μεταβολικές λειτουργίες όπως η μελανινογένεση ή η σύνθεση βιταμίνης D, έχει απεκκριτική – απορροφητική δράση και βοηθά στην άμυνα του οργανισμού.

Η επιδερμίδα αποτελείται από κάτω προς τα πάνω από 5 επιμέρους στιβάδες, τη βασική ή μητρική, την ακανθωτή ή μαλπιγγιανή, την κοκκιώδη τη διαυγή και την κερατίνη. Τα βασικά κύτταρα της επιδερμίδας είναι τα κερατινοκύτταρα.

Το χόριο αποτελείται από τη θεμέλια ουσία (υαλουρονικό οξύ, πρωτεογλυκάνες, νερό, άλατα, γλυκοπρωτεΐνες), από ίνες κολλαγόνου, ελαστίνης και δικτυωτές, από κύτταρα (ινοβλάστες, λεμφοκύτταρα κ.α.) καθώς και από αγγεία (αρτηρίες, φλέβες, λεμφαγγεία), νεύρα και εξαρτήματα (τριχοσμηγματογόνος μονάδα, ιδρωτοποιοί και σμηγματογόνοι αδένες, νύχια).

Τέλος, το υπόδερμα σχηματίζεται από τον υποδόριο λιπώδη ιστό και περιλαμβάνει αγγεία, νεύρα και ιδρωτοποιούς αδένες.

4.1 Απορρόφηση συστατικών από το δέρμα

Με τον όρο διαδερμική απορρόφηση νοείται η διέλευση μίας ουσίας μέσω της επιδερμίδας στο κυρίως δέρμα και στη συνέχεια η είσοδός της στην κυκλοφορία. Οι περισσότερες ουσίες διαπερνούν το δέρμα μέσω των κερατινοκυττάρων, του μεσοκυττάρου χώρου της κερατίνης στιβάδας και των εξαρτημάτων της επιδερμίδας ενώ λίγες είναι οι ουσίες που παρακάμπτουν την κερατίνη στιβάδα και διαπερνούν το δέρμα διαμέσου των εξαρτημάτων. Η κερατίνη αποτελεί το βασικό φραγμό τόσο στην ενδοδερμική όσο και στη διαδερμική απορρόφηση των περισσότερων ουσιών, διότι η διάβασή τους από τις υπόλοιπες στιβάδες γίνεται σε μικρό χρονικό διάστημα (Βαρβαρέσου, 2011).

Τα στάδια λοιπόν της διαδερμικής απορρόφησης είναι τα εξής:

1. Τα μόρια της καλλυντικής ουσίας προσλαμβάνονται στην επιφάνεια της κερατίνης στιβάδας.
2. Διαχέονται σε αυτήν.
3. Διέρχονται μέσω του φραγμού κερατίνης – φωσφολιπιδίων της κερατίνης στιβάδας.

Τα στάδια αυτά αφορούν την απορρόφηση των καλλυντικών προϊόντων τα οποία απευθύνονται κατά βάση στο χώρο των στιβάδων της επιδερμίδας και κυρίως στην κερατίνη (Γραμματικόπουλος & Κουσκούκης, 1998).

Οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τη διάβαση της ουσίας από την κερατίνη στιβάδα είναι:

- Οι φυσικοχημικές ιδιότητες της ουσίας: Η διαλυτότητα μίας ουσίας, δηλαδή εάν είναι υδατοδιαλυτή ή λιποδιαλυτή, επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την ικανότητά της να διαπερνά το φραγμό του δέρματος. Όπως είναι γνωστό, η πλασματική μεμβράνη που περιβάλλει το κύτταρο αποτελείται από μόρια λιπιδίων και πρωτεϊνών έτσι ώστε οι λιποδιαλυτές ουσίες να διαπερνούν το κύτταρο δια μέσου των λιπιδίων της μεσοκυττάριας περιοχής, ενώ οι υδατοδιαλυτές, πολικές ουσίες μη ηλεκρολυτικής φύσεως να διέρχονται κυρίως μέσω των κερατινοκυττάρων. Γενικά, ισχύει ότι η πολικότητα είναι αντιστρόφως ανάλογη της διαβατότητας κερατίνης, δηλαδή όσο πιο πολικό είναι ένα μόριο, τόσο πιο δύσκολα θα μπορέσει να διαπεράσει την κερατίνη στιβάδα. Εκτός από το μοριακό βάρος, την πολικότητα και τη λιποφιλία της ουσίας, σημαντικός είναι και ο ρόλος του μεγέθους του μορίου όπου όπως είναι λογικό, όσο μικρότερο είναι, τόσο πιο γρήγορα απορροφάται.

- Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες: Η λειτουργία του δέρματος ως φραγμός, οφείλεται σε μεγάλο ποσοστό στην ικανότητα της κερατίνης να συγκρατεί νερό. Συνθήκες του περιβάλλοντος όπως είναι η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία επηρεάζουν την ενυδάτωση της κερατίνης και κατ' επέκταση και τη διαβατότητά της.
- Η βιολογική κατάσταση: Καθώς η ενυδατωμένη κερατίνη παρουσιάζει αυξημένη διαβατότητα, παράγοντες που επηρεάζουν την ενυδάτωση, μπορούν να επιδράσουν εξίσου και στη διαβατότητα. Τέτοιοι είναι η ηλικία αλλά και ορισμένες ασθένειες. Επιπλέον η διαβατότητα εξαρτάται από την περιοχή του σώματος και τη λιπιδική σύσταση του δέρματος.
- Τα έκδοχα: Το μέγεθος των σωματιδίων και η συγκέντρωση του φαρμάκου στο έκδοχο είναι ορισμένοι παράγοντες που μεταβάλλουν την ενυδάτωση της κερατίνης επηρεάζοντας άμεσα τη διαβατότητα. Ωστόσο, το έκδοχο μπορεί να την επηρεάσει και έμμεσα εάν προσβάλλει τα κύτταρα της κερατίνης.
- Περιφερική κυκλοφορία: Η υπεραϊμία γενικά αυξάνει την απορρόφηση από το δέρμα. Όμως όταν αυτή συνοδεύεται από βλάβες όπως φλεγμονές, τότε η καλύτερη απορρόφηση είναι αποτέλεσμα της ασυνέχειας του φραγμού και όχι της αυξημένης ροής αίματος.

4.2 Μεταβολισμός δέρματος

Ο μεταβολισμός δέρματος αποτελεί ένα σχετικά πρόσφατο ερευνητικό ζήτημα, καθώς οι μελέτες μεταβολισμού παραδοσιακά επικεντρώνονται στο ήπαρ ως το κύριο όργανο μεταβολισμού. Αν και τα επίπεδα έκφρασης και δραστηριότητας των ενζύμων στο δέρμα είναι πολύ χαμηλότερα απ' ότι στο ήπαρ, αθροιστικά, δεδομένης της μεγάλης έκτασης του δέρματος, η ικανότητα μεταβολισμού του μπορεί να είναι σημαντική. Το δέρμα, αποτελεί ένα μεταβολικά ενεργό όργανο και μία από τις πιο σημαντικές οδούς έκθεσης του ανθρώπινου οργανισμού γι' αυτό πλέον αναγνωρίζεται ότι η πρόβλεψη του μεταβολισμού δέρματος είναι απαραίτητη για τη λήψη ακριβών προβλέψεων πιθανής τοξικότητας ή δραστηριότητας π.χ. στην περίπτωση τοπικής χορήγησης φαρμάκων ή δερμοκαλλυντικών¹. Εάν το ένζυμο (ή τα ένζυμα) γνωρίζουμε ότι βρίσκεται στο δέρμα, τότε το πιθανότερο είναι

¹ Τα καλλυντικά που συνδυάζουν μία καλλυντική ιδιότητα με μία δερματολογική δράση, δρουν τοπικά στο δέρμα και επικουρικά σε πολλές φαρμακευτικές αγωγές ενώ περιέχουν δραστικές ουσίες που πιθανόν τροποποιούν τις βιοχημικές διαδικασίες του δέρματος με κύριο σκοπό τη βελτίωση ή συντήρηση των κλινικών σημείων μίας κατάστασης που μπορεί να θεωρηθεί «πάθηση – μη – πάθηση» αποδίδονται στην ξενόγλωσση βιβλιογραφία με τον αδόκιμο όρο «cosmeceuticals» ο οποίος προέρχεται από τη συνένωση των λέξεων cosmetics και pharmaceuticals και στην ελληνική γλώσσα με τον όρο «δερμοκαλλυντικά» ή «φαρμακοκαλλυντικά» (Τσιρίβας, et al., 2016)

να ακολουθήσει την έκφραση μέσω της δερματικής οδού. Η πραγματική επιβεβαίωση της παρουσίας ενός δεδομένου ενζύμου απαιτεί πειραματική επαλήθευση χρησιμοποιώντας πειραματικά συστήματα με βάση το δέρμα (Madden, et al., 2017). Μεγάλο μέρος της κατανόησής μας για τη μεταβολική ικανότητα του δέρματος βασίστηκε σε πειράματα *ex vivo* που χρησιμοποιούν δέρμα τρωκτικών και χοίρων. Ωστόσο, ηθικές και νομοθετικές αλλαγές οδήγησαν τους ερευνητές να εξερευνήσουν διαφορετικά μοντέλα που δεν σχετίζονται με ζώα. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε κομμάτι ανθρώπινου δέρματος που συνήθως λαμβάνονταν από χειρουργική επέμβαση και αποτέλεσε ένα ελκυστικό *ex vivo*² εργαλείο που προσέφερε μία φυσική δομή ιστού και μικτούς κυτταρικούς πληθυσμούς. Μειονέκτημα αυτού, αποτέλεσε ο περιορισμός του ως πειραματικό μοντέλο λόγω της διαθεσιμότητας, της ατομικής μεταβλητότητας και του περιορισμένου χρόνου για τον οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο ιστός μετά την εκτομή. Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί δραματική αύξηση στη χρήση τεχνητών ιστών, ανακατασκευασμένων ισοδύναμων δέρματος, με τους ερευνητές να αναζητούν τον έλεγχο της προσφοράς ιστών και της πειραματικής αναπαραγωγιμότητας. Μορφολογικά, τα μοντέλα αυτά, εμφανίζουν ένα στρωματοποιημένο πλακώδες επιθήλιο, που μιμείται πολύ στενά την εγγενή δομή και οργάνωση του ανθρώπινου δέρματος. Αυτά τα ισοδύναμα του δέρματος προσφέρουν ένα πλεονέκτημα έναντι του *ex vivo* ιστού, καθώς μπορούν να καλλιεργηθούν κατόπιν ζήτησης και για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους, επιτρέποντας λεπτομερείς μελέτες. Επιπλέον, τα ισοδύναμα μοντέλα του δέρματος είναι αποδεκτά σε ανοσοϊστολογική εξέταση για να παρέχουν στοιχεία για την ειδική έκφραση των ενζύμων μεταβολισμού εντός της επιδερμίδας ή του δέρματος. Η πρόοδος της αναλυτικής μεθοδολογίας, που επιτρέπει την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό όλο και χαμηλότερων συγκεντρώσεων ενζύμων, το πλήθος στοιχείων για το ποια ένζυμα εκφράζονται στο δέρμα και το πώς η ενζυμική δραστηριότητα ποικίλλει μεταξύ δέρματος και ήπατος, σε συνδυασμό με τα υπάρχοντα δεδομένα για το μεταβολισμό του ήπατος, είναι στοιχεία που με τις κατάλληλες τροποποιήσεις μπορούν να συμβάλλουν ουσιαστικά στην έρευνα περισσότερων πληροφοριών για το μεταβολισμό δέρματος αλλά και στην ανάπτυξη πιο ισχυρών μοντέλων εκτίμησης κινδύνου των χημικών ουσιών μετά από έκθεση στο δέρμα. Τέτοιες βελτιώσεις στην αναλυτική μεθοδολογία έχουν οδηγήσει σε ακριβέστερη αναγνώριση και στον ακριβέστερο ποσοτικό προσδιορισμό των ενζύμων στο δέρμα. Κατά τις τροποποιήσεις αυτές, θα πρέπει να λάβουμε υπόψη μας ότι η στοματική και η δερματική

² Βιολογικός όρος που αναφέρεται σε πειράματα που λαμβάνουν χώρα είτε σε ιστούς εκτός του οργανισμού είτε σε τεχνητό περιβάλλον.

οδός διαφέρουν, καθώς το δέρμα έχει εξελιχθεί για να λειτουργεί ως φραγμός ενώ η γαστρεντερική οδός έχει σχεδιαστεί για την πρόσληψη βασικών θρεπτικών ουσιών. Οι σμηγματογόνοι και οι ιδρωτοποιοί αδένες φαίνεται να παρουσιάζουν περιορισμένη ικανότητα μεταβολισμού, σίγουρα όμως η ύπαρξή τους δεν απαιτεί προϋπόθεση για την υλοποίηση του, αφού αυτός εξακολουθεί να υπάρχει ακόμη και σε περιοχές που απουσιάζουν όπως είναι τα πέλματα (Martin , et al., 1987).

Υπό μελέτη βρίσκονται και ορισμένα υπολογιστικά (in silico) εργαλεία που μπορούν να εφαρμοστούν για την πρόβλεψη μεταβολισμού του δέρματος ενώ συγχρόνως συζητάται ο συνδυασμός τους με την κατάλληλη στρατηγική πρόβλεψης και η ενσωμάτωση περαιτέρω πληροφοριών από in vitro μελέτες στη μοντελοποίηση για επαληθευτικούς σκοπούς.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. Ποια είναι τα υπολογιστικά (in silico) εργαλεία

Σύμφωνα με την καθοδήγηση του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Χημικών (ECHA – European Chemicals Agency) για τις απαιτήσεις πληροφοριών και την αξιολόγηση ασφάλειας χημικών, οι μη δοκιμαστικές ή εναλλακτικές μέθοδοι, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις βασικές ομάδες. Πρώτον στις ομαδοποιημένες προσεγγίσεις στις οποίες ανήκουν η αναλογική προσέγγιση «read – across» δηλαδή μία τεχνική πλήρωσης κενών δεδομένων και η προσέγγιση κατηγορίας δηλαδή ο διαχωρισμός βάσει χημικής κατηγορίας. Δεύτερον στις σχέσεις δομής - δράσης (SAR) και ποσοτικής σχέσης δομής – δράσης (QSAR)³ που αποτελούν τεχνικές που βασίζονται σε σύμπλοκα (Tsantili-Kakoulidou 1999). Η μοντελοποίηση που βασίζεται σε σύμπλοκα όπως το QSAR, περιλαμβάνει ενεργά σύμπλοκα χωρίς να λαμβάνει υπόψη την τρισδιάστατη δομή της πρωτεΐνης και των πιθανών θέσεων αλληλεπίδρασης. Εκτός των τεχνικών που βασίζονται σε σύμπλοκα, υπάρχουν και αυτές που βασίζονται σε στόχους, οι οποίες λαμβάνουν υπόψη τη δομή της πρωτεΐνης και υπολογίζουν τις ατομικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συμπλόκων και των μακρομορίων στόχων τους. Απαιτούν τρισδιάστατες δομές τόσο των συμπλόκων όσο και των μακρομορίων καθώς και ισχυρή υπολογιστική δύναμη. Αλγόριθμοι βασισμένοι σε σύμπλοκα ή στόχους μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απόκτηση πρόσθετων δομικών

³ QSAR: Προκύπτει από τις αγγλικές λέξεις Quantitative Structure – Activity Relationship και συνήθως χρησιμοποιείται για να περιγράψει τόσο τα QSAR όσο και τα SAR (Structure – Activity Relationship).

γνώσεων και για περαιτέρω επαλήθευση ατομικών μοντέλων. Σήμερα, συχνά οι 2 μέθοδοι (συμπλόκων και στόχων) συνδυάζονται. Τρίτη και τελευταία ομάδα αποτελούν τα ειδικά συστήματα, τα οποία μιμούνται την ανθρώπινη λογική και επισημοποιούν τις υπάρχουσες γνώσεις. Η ανάπτυξη και η εφαρμογή όλων των ειδών μη δοκιμαστικών μεθόδων, βασίζεται στην αρχή της ομοιότητας, δηλαδή στην υπόθεση ότι όμοιες ενώσεις θα έχουν παρόμοιες βιολογικές διαδικασίες. Τα ειδικά συστήματα έχουν ένα πλεονέκτημα έναντι των μεθόδων QSAR όσον αφορά την πρόβλεψη κάποιου μηχανισμού, όμως εφαρμόζονται συνήθως σε στενό εύρος στόχων π.χ. ένζυμα. Η δραστηριότητα ενός δεδομένου ενζύμου στο δέρμα μπορεί να επιβεβαιωθεί μόνο με πειραματικές μεθόδους. Μόλις επιβεβαιωθεί η παρουσία ενός δεδομένου ενζύμου, υπάρχουν ορισμένα πακέτα λογισμικού που μπορούν να προβλέψουν εάν μια δεδομένη χημική ουσία είναι πιθανό υπόστρωμα για αυτό το ένζυμο. Οι εξελίξεις σε αυτόν τον τομέα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη συνεχή πειραματική επαλήθευση της ενζυματικής δραστηριότητας και τη βελτίωση των υπολογιστικών (in silico) μεθόδων για την πρόβλεψη των αλληλεπιδράσεων ενζύμου-υποστρώματος.

5.1 Μοντέλα QSAR

Τα QSAR είναι μαθηματικά μοντέλα που συσχετίζουν ένα ποσοτικό μέτρο της χημικής δομής με μία φυσική ιδιότητα ή μία βιολογική επίδραση π.χ. τοξικότητα. Ο όρος ποσοτικό στο QSAR αναφέρεται στη φύση των παραμέτρων που χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη. Σε γενικές γραμμές, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη των φυσικοχημικών και βιολογικών ιδιοτήτων των ενώσεων, καθώς και των ιδιοτήτων τους, βάσει των γνώσεων που αφορούν τη χημική δομή τους. Εκτός αυτού, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και για την αξιολόγηση χημικών ουσιών μέσω in silico προσεγγίσεων ή/και σε συνδυασμό με in vivo ή/και in vitro πειραμάτων.

Αν και η τεχνική πρόοδος ήταν ταχεία, η κανονιστική αποδοχή των προσεγγίσεων με QSAR μοντέλα ήταν αργή. Η κατάσταση πλέον αλλάζει καθώς στις μέρες μας υπάρχει σαφής ανάγκη κανονισμών για τη χρήση των QSAR. Η υπολογιστική (in silico) τεχνολογία παρουσιάζει ιδιαίτερη βελτίωση στις κανονιστικές ρυθμίσεις τοξικολογίας, καταφέροντας έτσι να γεφυρώσει το χάσμα επικοινωνίας μεταξύ τοξικολόγων και εμπειρογνομόνων QSAR. Η χρήση εργαλείων in silico μέχρι στιγμής περιορίζεται κυρίως στο να καλύπτει κενά δεδομένων κυρίως για χημικές ουσίες χαμηλού κινδύνου όμως δεν χρησιμοποιείται ακόμη ως μέσο πλήρους αντικατάστασης των κλασσικών, μη εναλλακτικών μεθόδων. Όπως ισχύει και για κάθε άλλη μορφή δεδομένων, πρέπει να παρέχεται επαρκής τεκμηρίωση

ώστε να είναι εφικτή η ανεξάρτητη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Ωστόσο αξίζει να τονιστεί ότι η χρήση των QSAR χρησιμοποιείται τακτικά για την πρόβλεψη ορισμένων βασικών παραμέτρων περιβαλλοντικής κατάληξης των οργανικών ουσιών, εν μέρει επειδή ο πειραματικός προσδιορισμός αυτών των παραμέτρων μπορεί να είναι δύσκολος ή/και δαπανηρός αλλά και επειδή αυτές οι πληροφορίες δεν απαιτούνται συνήθως στα πλαίσια κανονιστικών ρυθμίσεων.

Οι αρχές για την επικύρωση των μεθόδων QSAR από τον Οργανισμό Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης (OECD) ορίζουν ότι για να διευκολυνθεί η εξέταση ενός μοντέλου QSAR για κανονιστικούς σκοπούς, θα πρέπει να σχετίζεται με τις εξής πληροφορίες:

- Καθορισμένο τελικό σημείο.
- Ασφαλής αλγόριθμος.
- Καθορισμένο πεδίο εφαρμογής.
- Κατάλληλα μέτρα προσαρμογής, ανθεκτικότητας και προβλεψιμότητας.
- Μηχανική ερμηνεία εάν είναι δυνατόν.

Ένα από τα πιο σημαντικά ζητήματα στην επικύρωση του μοντέλου είναι ο ορισμός του πεδίου εφαρμογής του. Ο τομέας στον οποίο εφαρμόζεται ένα QSAR είναι ο φυσικοχημικός, δομικός ή βιολογικός χώρος για τους οποίους έχει ανεπτυγμένες γνώσεις πληροφορικής το συγκεκριμένο μοντέλο και έτσι μπορεί να εφαρμοστεί και για την πρόβλεψη νέων ενώσεων. Ένα έγκυρο QSAR θα συσχετιστεί με τουλάχιστον έναν καθορισμένο τομέα εφαρμοσιμότητας στον οποίο το συγκεκριμένο μοντέλο θα κάνει εκτιμήσεις με καθορισμένο επίπεδο ακρίβειας (αξιοπιστία). Όταν εφαρμόζεται σε χημικές ουσίες εντός του πεδίου εφαρμογής του, το μοντέλο θεωρείται ότι δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα. Ωστόσο, η εισαγωγή ακατάλληλων ή κακής ποιότητας δεδομένων όπως είναι λογικό, θα δώσει ψευδή αποτελέσματα.

Η διαδικασία αποδοχής των μοντέλων QSAR βάσει του κανονισμού REACH⁴ θα περιλαμβάνει την αρχική αποδοχή από τη βιομηχανία και την επακόλουθη αξιολόγηση από τις αρχές, κατά περίπτωση. Παρόλο που δεν αναμένεται να υπάρξει μία επίσημη, νομικά

⁴ Ο κανονισμός REACH είναι κανονισμός της Ευρωπαϊκής Ένωσης που θεσπίστηκε με στόχο την καλύτερη προστασία της υγείας του ανθρώπου και του περιβάλλοντος από τους κινδύνους που μπορεί να ενέχουν τα χημικά προϊόντα, καθώς και για την ενίσχυση της ανταγωνιστικότητας της χημικής βιομηχανίας της ΕΕ. Επίσης, προάγει εναλλακτικές μεθόδους για την αξιολόγηση της επικινδυνότητας των ουσιών με σκοπό τη μείωση του αριθμού των δοκιμών που διεξάγονται σε ζώα. (ECHA, 2008)

δεσμευτική λίστα για τη μέθοδο των μοντέλων QSAR, έχει αναπτυχθεί ποικιλία υπολογιστικών εργαλείων διαθέσιμων τόσο δωρεάν όσο και ως εμπορικό λογισμικό, κατάλληλων για ανάπτυξη και εφαρμογή μοντέλων QSAR. Αυτά τα εργαλεία, περιλαμβάνουν μεθόδους για μία σειρά διαδικασιών που σχετίζονται με τα QSAR όπως είναι η διαχείριση δεδομένων, η δημιουργία περιγραφών, η ανάλυση μοριακής ομοιότητας, η αναζήτηση αναλόγων και η αξιολόγηση κινδύνου. Σε κάθε περίπτωση η καλύτερη δυνατή λύση στο κοντινό μέλλον θα είναι ο έξυπνος συνδυασμός μεθόδων *in vitro*, *in silico* και *in vivo*.

5.2 Ομαδοποίηση

Οι ομαδοποιημένες προσεγγίσεις δεδομένων όπως αναφέρθηκε παραπάνω, διακρίνονται σε αναλογικές προσεγγίσεις «read across» και σε προσεγγίσεις βάσει χημικής κατηγορίας. Ως χημική κατηγορία νοείται μία ομάδα χημικών ουσιών των οποίων ορισμένες ιδιότητες είναι πιθανό να είναι παρόμοιες ή να ακολουθούν ένα κοινό πρότυπο. Συγκεκριμένα οι ομοιότητες μπορεί να βασίζονται στα ακόλουθα:

- Στην ύπαρξη κοινής λειτουργικής ομάδας π.χ αλδεΐδης.
- Σε κοινά συστατικά ή χημικές τάξεις.
- Σε κοινά προϊόντα διάσπασης μέσω φυσικών ή βιολογικών διεργασιών, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα δομικά παρόμοια χημικά.

Περιλαμβάνουν την κατηγοριοποίηση πιθανών χημικών αναλόγων βάσει του βαθμού δομικής, αντιδραστικής, μεταβολικής και φυσικοχημικής ομοιότητας με τη χημική ουσία της οποίας αναζητούνται τα τοξικολογικά δεδομένα.

Πιο αναλυτικά η ομαδοποιημένη προσέγγιση, επεκτείνεται πέρα από τη δομική ομοιότητα, συμπεριλαμβάνοντας και τη διαφοροποίηση βάσει της χημικής αντιδραστικότητας και εξετάζοντας την πιθανότητα ότι ένα ανάλογο και μόριο στόχος θα μπορούσε να δείξει τοξικολογικά σημαντική μεταβολική σύγκλιση ή απόκλιση. Επιπλέον, εντοπίζει διαφορές στις φυσικοχημικές ιδιότητες, οι οποίες θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη βιοδιαθεσιμότητα. Η προσέγγιση αυτή, παρέχει μία σταδιακή απόφαση δενδροειδούς μορφής για την κατηγοριοποίηση της καταλληλότητας των αναλόγων η οποία χαρακτηρίζει ποιοτικά τη δύναμη του στοιχείου να υποστηρίξει την υπόθεση της ομοιότητας. Η χημική κατηγοριοποίηση και τα QSAR συνδέονται ισχυρά.

Η αναλογική προσέγγιση «read across», διακρίνεται σε ποιοτική και ποσοτική και χρησιμοποιεί τις πληροφορίες του τελικού σημείου μίας χημικής ουσίας για την πρόβλεψη του ίδιου τελικού σημείου άλλης χημικής ουσίας που θεωρείται ως παρόμοια με κάποιον τρόπο (Συνήθως βάσει δομικής ομοιότητας). Η ποιοτική προσέγγιση που συνήθως χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό κινδύνων, είναι παρόμοια με τη χρήση ενός μοντέλου SAR και σαν διαδικασία περιλαμβάνει:

1. Τον προσδιορισμό μίας χημικής δομής ή ενός μηχανισμού δράσης που είναι κοινά σε δύο ουσίες που θεωρούνται ανάλογες.
2. Την υπόθεση ότι η παρουσία (ή η απουσία) μίας ιδιότητας για μία ουσία μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία (ή την απουσία) της ίδιας ιδιότητας για την ανάλογη ουσία.

Από την άλλη μεριά, η ποσοτική προσέγγιση περιλαμβάνει:

1. Τον προσδιορισμό μίας χημικής δομής ή ενός μηχανισμού δράσεις που είναι κοινά σε δύο ουσίες που θεωρούνται ανάλογες.
2. Την υπόθεση ότι η γνωστή τιμή μίας ιδιότητας για μία ουσία, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της άγνωστης τιμής της ίδιας ιδιότητας για μία άλλη ουσία.

Και στις δύο περιπτώσεις όμως απαιτείται η κρίση εμπειρογνομόνων και όπως είναι λογικό η κατάλληλη αιτιολόγηση.

5.3. Βιοκινητικά μοντέλα PBTK (Physiologically Based Toxicokinetic Modeling)

Στην ανάπτυξη κυρίως των φαρμάκων και στην περιβαλλοντική τοξικολογία, η μοντελοποίηση PBTK έχει γίνει ο ακρογωνιαίος λίθος της προσέγγισης για την οργάνωση και ολοκλήρωση των δεδομένων από μελέτες in vivo, in vitro και in silico ενώ συγχρόνως χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο για την προομοίωση της κινητικής και του μεταβολισμού των ουσιών για όσο το δυνατόν καλύτερη αξιολόγηση κινδύνου. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να είναι σε θέση να μειώσουν σημαντικά ή ακόμη και να αντικαταστήσουν τα ζώα σε πολλές έρευνες και μελέτες τοξικότητας.

Τα μοντέλα PBTK είναι εξελιγμένα, τμηματικά μοντέλα που προσπαθούν να χρησιμοποιούν ρεαλιστικές βιολογικές περιγραφές των παραγόντων που καθορίζουν την κατάσταση μίας

χημικής ένωσης στο σώμα. Στην πραγματικότητα ένα τέτοιο μοντέλο θα μπορούσε να χαρακτηριστεί και ως ένα μηχανιστικό μοντέλο ADME, που περιλαμβάνει διαμερίσματα που αντιστοιχούν άμεσα στα όργανα και τους ιστούς του σώματος που συνδέονται με το καρδιαγγειακό σύστημα. Ωστόσο ένας τέτοιος ορισμός δεν αφορά τη χρήση του συγκεκριμένου μοντέλου στην καλλυντική βιομηχανία παρά μόνο στη φαρμακευτική. Σε γενικά πλαίσια, η δημιουργία ενός μοντέλου PBTK απαιτεί σημαντική ποσότητα δεδομένων που ταξινομούνται σε τρεις ομάδες:

- Δεδομένα συστήματος (φυσιολογικά, ανατομικά, βιοχημικά).
- Δεδομένα για συγκεκριμένες ενώσεις.
- Τη δομή του μοντέλου (διάταξη ιστών και οργάνων που περιλαμβάνονται στο μοντέλο).

Η βασική χρήση της μοντελοποίησης PBTK δεν εμπίπτει στα πλαίσια της παρούσας εργασίας καθώς αφορά καθαρά φαρμακευτικές ουσίες, ωστόσο δεν παύει να είναι μία προσέγγιση ολοκληρωμένων συστημάτων για την κατανόηση της κινητικής συμπεριφοράς των ενώσεων, γεγονός το οποίο μπορεί να αυξήσει ουσιαστικά τις δυνατότητες για την καλύτερη ερμηνεία των *in silico* δεδομένων για χημικές ουσίες καλλυντικών προϊόντων. Προς το παρόν εφαρμόζονται κυρίως για την πρόβλεψη ή τη βελτίωση της δόσης που θα χρησιμοποιηθεί σε *in vivo* μελέτες.

Γενικά η μοντελοποίηση *in silico* και συγκεκριμένα τα μοντέλα PBTK δεν έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο σε θέματα που αφορούν την ανάπτυξη καλλυντικών. Ένα βασικό πρόβλημα που αντιμετωπίζεται είναι η δυσκολία να μοντελοποιηθεί με ακρίβεια η δερματική έκθεση καθώς και η απορρόφηση από τις στιβάδες του δέρματος για ορισμένες χημικές κατηγορίες. Η λύση σε αυτό το πρόβλημα απαιτεί πολύπλοκο λογισμικό και πολύωρη μελέτη γι' αυτό και δεν έχουν προς το παρόν αποτέλεσμα οι προσπάθειες που έχουν υλοποιηθεί (Adler, et al., 2011). Αν και θεωρητικά ακούγεται απλό στην πραγματικότητα δεν είναι. Θα πρέπει επίσης να βρεθεί η ισορροπία μεταξύ της ακρίβειας (που συνεπάγεται την πολυπλοκότητα) και της απλότητας έτσι ώστε να είναι αξιόπιστο αλλά και εύκολο στη χρήση.

6.Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα *in silico* εργαλείων

Όπως συμβαίνει με όλες τις δοκιμαστικές μεθόδους, έτσι και οι εναλλακτικές υπολογιστικές μέθοδοι «*in silico*», έχουν τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτητά τους. Τα πλεονεκτήματα

αυτών των μεθόδων σε σύγκριση με τις προσεγγίσεις *in vitro* και ιδιαίτερα *in vivo*, περιλαμβάνουν τα εξής (Ξανθόπουλος, 2020):

1. Υψηλότερη απόδοση.
2. Χαμηλότερο κόστος.
3. Λιγότερο χρονοβόρα διαδικασία.
4. Δυνατότητα συνεχούς βελτίωσης και καλύτερη χρήση υπάρχοντων δεδομένων.
5. Μεγαλύτερη αναπαραγωγιμότητα εάν χρησιμοποιηθεί το ίδιο ακριβώς μοντέλο.
6. Χαμηλές απαιτήσεις για τη σύνθεση πολύπλοκων ενώσεων.
7. Δυνατότητα αντικατάστασης, μείωσης και βελτίωσης (3R)⁵ της χρήσης ζώων.
8. Αποφυγή φυσικών «πειραμάτων» καθώς πιθανές υποψήφιες ενώσεις ή μόρια μπορούν να ιεραρχηθούν εικονικά χωρίς να είναι αναγκαία η σύνθεση πραγματικών μορίων (που μπορεί να είναι χρονοβόρα και δαπανηρή διαδικασία).

Όσον αφορά τη βελτίωση χρήσης ζώων που αναφέρθηκε παραπάνω, ένα παράδειγμα για την καλύτερη κατανόησή του είναι το εξής: Με τη χρήση μοντελοποίησης PBPK και την καλύτερη ενημέρωσή της, μπορεί να υπολογιστεί η καθορισμένη δόση για μία πειραματική μελέτη αντι να χρησιμοποιηθούν οι μέγιστες ανεκτές δόσεις. Έτσι, αποφεύγεται η άσκοπη χρήση υψηλών δόσεων που δεν αντικατοπτρίζει πιθανές ρεαλιστικές συνθήκες ενώ συγχρόνως βελτιώνεται η χρήση ζώων εάν αυτή δε μπορεί να αποφευχθεί. Μέχρι σήμερα, έχουν παρατηρηθεί σωστές προβλέψεις με τη χρήση μοντέλων QSAR σε ποσοστό >70% χωρίς να έχουν επικυρωθεί ως επί το πλείστον με εξωτερικά σύνολα δεδομένων (Raunio, 2011). Βέβαια να σημειωθεί, ότι το συγκεκριμένο ποσοστό αναφέρεται σε προσεγγίσεις διαδικασιών με καλά κατανοητούς μηχανισμούς π.χ. ευαισθητοποίηση, τοξικότητα και όχι για σύνθετα μοντέλα με πολλαπλά τελικά σημεία. Η προοπτική σε αυτό τον τομέα έγκειται στην κατανομή σύνθετων τελικών σημείων σε επιμέρους βήματα με βασικό πρόβλημα το πώς αυτά θα επικυρωθούν και θα συνδυαστούν για να γίνει μία πρόβλεψη. Εκτός αυτού, οι επιστήμονες καλούνται να αντιμετωπίσουν πλήθος ακόμη δυσκολιών καθώς τα *in silico* εργαλεία παρουσιάζουν και ορισμένα μειονεκτήματα, τα οποία είναι:

1. Η ποιότητα των πειραματικών δεδομένων που χρησιμοποιούνται.
2. Η διαφάνεια του προγράμματος, δηλαδή κατά πόσο είναι κατανοητός ο σκοπός του και το τι καλείται να διαμορφώσει.

⁵ Το τρίπτυχο αντικατάστασης, μείωσης και βελτίωσης συχνά βρίσκεται στη βιβλιογραφία σαν 3R ως συντομογραφία από τις αντίστοιχες αγγλικές λέξεις replacement, reduction, refinement (Gellatly & Sewell, 2019).

3. Οι παράμετροι ορισμένες φορές προκαλούν σύγχυση.
4. Ο τομέας εφαρμοσιμότητας δεν είναι πάντα σαφής.
5. Τα χαρακτηριστικά ADME, ιδίως ο μεταβολισμός, δεν λαμβάνονται υπόψη.

Εκτός αυτών μία επιπλέον πρόκληση παρά μειονέκτημα αποτελεί η *in silico* προσέγγιση σύνθετων μειγμάτων όπως είναι τα βοτανικά εκχυλίσματα, τα οποία χρησιμοποιούνται συχνά ως συστατικά των καλλυντικών. Αυτά, δεν περιέχουν καμία χημική ουσία οι οποίες συνήθως αποτελούν τα δεδομένα εισόδου για την εκτέλεση ενός *in silico* μοντέλου. Εκτός αυτού, τα βοτανικά εκχυλίσματα, είναι από τα υλικά που μπορεί να παρουσιάζουν τροποποιήσεις μεταξύ των παρτίδων. Μία προτεινόμενη λύση για το συγκεκριμένο θέμα είναι η εκτέλεση αναλυτικής χημείας για τον προσδιορισμό των ενεργών συστατικών και στη συνέχεια ο συνδυασμός *in silico* μεθόδων με προσέγγιση χημικής ομαδοποίησης.

Παρά τα μειονεκτήματά τους, δεν παύουν να είναι ένα διαρκώς εξελισσόμενο εργαλείο με σημαντικές προοπτικές για το μέλλον. Ωστόσο, είναι σημαντικό κατά τη χρήση τους να λαμβάνονται υπόψη πέρα από τις αδυναμίες τους και ορισμένες τεχνολογικές αβεβαιότητες όπως είναι η έλλειψη της ευρείας κατανόησης για την κατασκευή ενός μοντέλου, ο περιορισμένος χώρος εφαρμοσιμότητας αλλά και η υψηλή πιθανότητα ύπαρξης πολλαπλών μηχανισμών τοξικότητας των ενώσεων που προς το παρόν δεν μπορούν να μοντελοποιηθούν. Βέβαια η πιο πρόσφατη αναθεώρηση των σημειώσεων της SCCS (Επιστημονική Επιτροπή Ασφάλειας Καταναλωτών), παρόλο που αναγνωρίζει το ρόλο των *in silico* προσεγγίσεων στην παροχή δεδομένων, για αξιολογήσεις ασφαλείας συνιστά να χρησιμοποιούνται παράλληλα με *in chemico* ή/και *in vitro* μεθόδους (SCCS, 2018). Τα παραπάνω δεν καθιστούν τις *in silico* μελέτες λιγότερο χρήσιμες, όμως είναι καλό να επισημαίνονται και σταδιακά να αντιμετωπίζονται όποτε αυτό είναι εφικτό.

7.Ιδιότητες ADME(T)

Ο όρος ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion) – (Απορρόφηση, Κατανομή, Μεταβολισμός, Απέκκριση) χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις τέσσερις διαδικασίες που σχετίζονται με τη φαρμακοκινητική των ουσιών που αλληλεπιδρούν με τους ζωντανούς οργανισμούς. Στην τοξικολογία συχνά καλείται ως τοξικοκινητική ή βιοκινητική. Στο σύνολό τους οι διαδικασίες αυτές, καθορίζουν την πορεία της ουσίας μέσα στο σώμα.

Ο όρος ADMET εκφράζει το συνολικό προφίλ των ιδιοτήτων ADME αλλά και τις τοξικές επιδράσεις μίας ουσίας. Πλήθος εμπορικών και δημόσιων in silico μεθόδων με τα οποία μπορούν να αξιολογηθούν οι ιδιότητες ADMET είναι διαθέσιμο. Σε μελέτη πάνω στις εναλλακτικές μεθόδους για δοκιμές των καλλυντικών, αναφέρεται ότι υπάρχει μεγάλος αριθμός in vitro ή/και in silico μεθόδων σε διάφορα επίπεδα ανάπτυξης για τα περισσότερα από τα στάδια και τους μηχανισμούς που διέπουν την τοξικοκινητική των καλλυντικών ουσιών. Για την πρόβλεψη των ιδιοτήτων ADMET των χημικών ουσιών που αποτελούν συστατικά των καλλυντικών προϊόντων, χρησιμοποιούνται τα μοντέλα PBTK που αναφέρθηκαν παραπάνω.

8. In silico προβλέψεις στη βιομηχανία καλλυντικών για:

8.1 Τοξικότητα

Τα καλλυντικά ανήκουν στις πιο πολυχρησιμοποιούμενες ουσίες στην καθημερινότητα των ανθρώπων σχεδόν καθ'όλη τη διάρκεια της ημέρας είτε σε επιμέρους περιοχές είτε σε ολόκληρο το σώμα. Το άτομο που ασχολείται με τα καλλυντικά θα πρέπει να έχει γνώσεις για ποικίλους τομείς, δηλαδή να γνωρίζει ό,τι αφορά το δέρμα, τους φυσικοχημικούς ελέγχους, τις μελέτες σταθερότητας, τους μικροβιολογικούς ελέγχους, να έχει εμπειρία στα υλικά συσκευασίας ώστε αυτά να συμβάλλουν στη σταθερότητα του προϊόντος αλλά και να μπορεί να αξιολογήσει σωστά την αποτελεσματικότητά του. Για να κυκλοφορήσει δηλαδή ένα προϊόν θα πρέπει να συνδυάζει το τρίπτυχο ποιότητας, ασφάλειας και αποτελεσματικότητας (Κομίνη, et al., 2016). Ωστόσο δε νοείται καλλυντικό βάσει νόμου που υπάρχει ενδεχόμενο να προκαλέσει τοξικότητα σε αυτόν που το χρησιμοποιεί. Το γεγονός αυτό, καθιστά αδιαμφισβήτητο τον έλεγχο τοξικότητας όχι μόνο των τελικών προϊόντων αλλά και των επιμέρους συστατικών τους έτσι ώστε να είναι απολύτως ασφαλή. Με τον όρο τοξικότητα, περιγράφεται η ικανότητα μιας ουσίας να επηρεάζει τις ζωτικές λειτουργίες ενός βιολογικού συστήματος. Απαραίτητη προϋπόθεση για μία τέτοια δράση, αποτελεί η δυνατότητα της ουσίας ή/και των προϊόντων βιομετασχηματισμού της, να φθάσουν στον κατάλληλο υποδοχέα του βιολογικού συστήματος και να παραμείνουν εκεί σε μία επαρκώς υψηλή συγκέντρωση για ένα ικανό χρονικό διάστημα (Madden, et al., 2017). Οι παράμετροι που προσδιορίζουν την τοξικότητα μίας ουσίας ποικίλουν και μπορούν να σχετίζονται με τη χημική σύσταση της ουσίας, με τις συνθήκες έκθεσης αυτής, με ενδογενείς παράγοντες του βιολογικού συστήματος (π.χ. ηλικία, φύλο, ιδιοσυγκρασία) αλλά και με περιβαλλοντικούς παράγοντες (π.χ. θερμοκρασία, ακτινοβολία). Ορισμένες κατηγορίες

πρώτων υλών όπως τα συντηρητικά, οι χρωστικές και τα φίλτρα προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία έχουν σημαντική τοξικότητα και γι' αυτό υπάρχουν στη νομοθεσία ειδικά παραρτήματα που αναφέρουν ποια επιτρέπονται, σε ποια προϊόντα και σε ποιες συγκεντρώσεις. Ωστόσο, από τα βασικότερα στοιχεία στην έρευνα τοξικότητας μίας ουσίας, είναι ο καθορισμός της δόσης που μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση μίας ανεπιθύμητης ενέργειας μετά από απλή ή κατ' επανάληψη εφαρμογή. Η γνώση των παραπάνω παραγόντων μέσω εμπειρικής δοκιμής ήταν συχνή όσο δεν ήταν διαθέσιμες άλλες μέθοδοι και μπορούσαμε να αρκεστούμε στην παρατήρηση των ευρημάτων. Για ορισμένες ουσίες η συγκεκριμένη διαδικασία ήταν εύκολη, καθώς είχαν χρησιμοποιηθεί για μεγάλα διαστήματα χωρίς να προκαλέσουν καμία σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια και έτσι κατά κάποιο τρόπο είχε εξαλειφθεί το ενδεχόμενο πιθανής τοξικότητας. Στην αντίθετη περίπτωση, η μελέτη νέων ουσιών έπρεπε να υλοποιηθεί σχολαστικά καθώς ήταν απαραίτητος ο έλεγχος κάθε ουσίας μεμονωμένης αλλά και ο έλεγχος του συνόλου των ουσιών στο προϊόν. Παρ' όλα αυτά, η γνώση των παραμέτρων που αναφέρθηκαν, δεν συνέφερε να αποκτηθεί μέσω εμπειρικών δοκιμών ούτε από πρακτικής άποψης ούτε από οικονομικής. Εκτός αυτού, υπήρχε και η δυνατότητα πειραματισμού σε ζώα, όμως απαγορεύτηκε επισήμως το 2013 καθώς δεν αποτελεί μία ηθικά υπεύθυνη πράξη και υπάρχουν αμφιβολίες και επιφυλάξεις για το κατά πόσο σε κάθε περίπτωση η παρατήρηση σε ζώα μπορεί να μεταφερθεί και να αξιολογηθεί στον ανθρώπινο οργανισμό. Κατά συνέπεια, η χρήση εναλλακτικών μεθόδων για την αξιολόγηση χημικών ουσιών ή για την αξιολόγηση των κινδύνων π.χ. δοκιμές *in silico* άρχισε να αποτελεί ένα διαρκώς εξελισσόμενο και απαραίτητο τομέα.

8.1.1 Κοινές δοκιμασίες για αξιολόγηση τοξικότητας

Η ασφάλεια των καλλυντικών κρίνεται αρχικά από την τοξικότητα των επιμέρους συστατικών τους και έπειτα από το καλλυντικό ως τελικό προϊόν. Πιο συγκεκριμένα, το κάθε συστατικό που θα χρησιμοποιηθεί στο εκάστοτε καλλυντικό θα πρέπει να συνοδεύεται από φάκελο που αναφέρει τα εξής στοιχεία:

- Οξεία εκ του στόματος τοξικότητα.
- Δερματική απορρόφηση.
- Δερματική ερεθιστικότητα.
- Οφθαλμική ερεθιστικότητα.
- Ευαισθητοποίηση δέρματος.
- Χρόνια τοξικότητα.

- Γονοτοξικότητα.
- Φωτοτοξικότητα (σε περίπτωση που έρχεται σε επαφή με το ηλιακό φως).
- Δεδομένα τοξικότητας στον άνθρωπο.
- Τοξικοκινητική (σε περιπτώσεις που η ύλη λαμβάνεται από το στόμα ή που υπάρχει σημαντική απορρόφηση έπειτα από δερματική χορήγηση).

Πιο αναλυτικά, για να υπολογιστεί η ασφάλεια των επιμέρους συστατικών των καλλυντικών, υπολογίζεται πρώτα το λεγόμενο όριο ασφαλείας κάθε πρώτης ύλης (Margin of Safety, MoS) για το οποίο ισχύει ότι $MoS = \frac{NOAEL}{SED}$, όπου:

NOAEL: Η δόση με την οποία δεν παρατηρείται κανένα σύμπτωμα τοξικότητας στον έλεγχο χρόνιας τοξικότητας μίας πρώτης ύλης (No Observed Effect Level).

SED: Η δόση συστηματικής έκθεσης (Systemic Exposure Dosage), η οποία εκφράζεται ως $SED = \frac{DA \left(\frac{mg}{cm^2} \right) \times SSA (cm^2) \times F (day^{-1})}{60kg}$, όπου DA η δερματική απορρόφηση, SSA η επιφάνεια του δέρματος στην οποία θα εφαρμοστεί το τελικό προϊόν, F η συχνότητα εφαρμογής του τελικού προϊόντος σε ημέρες. Τα 60kg αντιπροσωπεύουν ένα μέσο αυθαίρετο σωματικό βάρος.

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), μετά τον υπολογισμό των παραπάνω θα πρέπει να καταλήξουμε σε ένα τελικό αποτέλεσμα όπου $MoS \geq 100$ έτσι ώστε η πρώτη ύλη να θεωρηθεί ασφαλής.

8.1.2 In silico μελέτη για την πρόβλεψη τοξικότητας στα καλλυντικά

Υπάρχουν πολλοί οικονομικοί, επιστημονικοί και κοινωνικοί λόγοι που προωθούν την ανάπτυξη και τη χρήση των υπολογιστικών (in silico) μεθόδων στην τοξικολογία. Ένα μεγάλο μέρος της υπολογιστικής τοξικολογίας αναπτύχθηκε από φαρμακοβιομηχανίες που την χρησιμοποίησαν για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Έχουν χρησιμοποιηθεί πολλά διαφορετικά είδη in silico μεθόδων για τη δημιουργία μοντέλων φαρμακοδυναμικής, φαρμακοκινητικής και τοξικολογικών προβλέψεων. Ο Οργανισμός Περιβαλλοντικής Προστασίας των Ηνωμένων Πολιτειών ορίζει την τοξικολογία in silico ως «ολοκλήρωση της σύγχρονης τεχνολογίας πληροφορικής και της μοριακής βιολογίας για τη βελτίωση της προτεραιότητας των απαιτήσεων δεδομένων και της εκτίμησης κινδύνου των χημικών ουσιών» (Raunio, 2011). Με προγράμματα πληροφορικής όπως το Caesar και άλλα που θα αναφερθούν παρακάτω, γίνονται συνεχείς προσπάθειες για την αξιολόγηση των συστατικών

μέσω μοντέλων, που στηρίζονται στη δομή, στις φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες των μορίων. Η λειτουργία τέτοιων προγραμμάτων βασίζεται κυρίως στην κατηγοριοποίηση των ουσιών βάσει των ομοιοτήτων τους οι οποίες είναι υπεύθυνες και για την εμφάνιση σχετικά όμοιας τοξικότητας. Σε αυτά τα προγράμματα κρίνεται απαραίτητος και ο προσδιορισμός των ορίων για τις προσμίξεις και τους ρύπους που μπορεί να υπάρχουν σε κάποιο συστατικό του καλλυντικού (Threshold of Toxicological Concern – TCC) και πρέπει να κυμαίνονται εντός καθορισμένων ορίων. Συγκεκριμένα ο δείκτης TTC, πρόκειται για μία τιμή κάτω από την οποία υπάρχει πολύ χαμηλή πιθανότητα σημαντικού κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία και αρχικά χρησιμοποιήθηκε για την ασφάλεια τροφίμων, μέχρι που η COLIPA (The European Cosmetic and Perfumery Association) το 2010, χρηματοδότησε εμπειρογνώμονες ώστε να εξεταστεί πιθανή χρήση του και στην αξιολόγηση ασφαλείας καλλυντικών προϊόντων. Συνήθως εφαρμόζεται σε χημικές ουσίες για τις οποίες δεν είναι διαθέσιμα τοξικολογικά δεδομένα. Συνιστάται επίσης η προσπάθεια περαιτέρω ανάπτυξης τέτοιων προσεγγίσεων για την εκτίμηση κινδύνων, για παράδειγμα κλιμακωτές προσεγγίσεις, που περιλαμβάνουν πληροφορίες σχετικά με τη διείσδυση του δέρματος, για την αξιολόγηση της πιθανής εσωτερικής έκθεσης.

Ορισμένα εργαλεία για την πρόβλεψη τοξικότητας ή για τον εντοπισμό δομικών χαρακτηριστικών που σχετίζονται με την τοξικότητα, είναι τα εξής:

Chem Tunes: Πρόκειται για ειδική βάση δεδομένων που συμβάλλει στην αποθήκευση, διαχείριση και αναζήτηση χημικών ουσιών. Χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη τοξικότητας αλλά και για την αξιολόγηση ασφαλείας ποικίλων χημικών ουσιών καθώς διαθέτει πλήθος χημικών χώρων και κανονιστικών ρυθμίσεων με αποτέλεσμα να εντοπίζει ουσίες που χρησιμοποιούνται όχι μόνο σε καλλυντικά αλλά και σε φάρμακα, τρόφιμα κ.τ.λ. Συνολικά, μπορεί να προβλέψει περίπου 100.000 διαφορετικές χημικές ενώσεις. Η λειτουργία του βασίζεται σε στατιστικά μοντέλα QSAR που είναι ενισχυμένα με προσεγγίσεις βιοπληροφορικής.

Chemotyper: Πρόκειται για ένα διαδραστικό εργαλείο που προσδιορίζει συγκεκριμένους χημικούς τύπους σε ένα σύνολο δεδομένων χημικών ουσιών και συμβάλλει στην ομαδοποίησή τους.

VEGA: Πρόκειται για εικονικά μοντέλα που συνδυάζουν τη χρήση QSAR και read across συμβάλλοντας στην αξιολόγηση χημικών ουσιών βάσει των τελικών σημείων τοξικότητας. Το συγκεκριμένο πρόγραμμα, παρέχει μία πλατφόρμα για in silico μοντέλα τα οποία

μπορούν να υποστηρίξουν την αξιολόγηση ασφαλείας αρκετών χημικών ενώσεων. Σε σύγκριση με άλλα λογισμικά που χρησιμοποιούν μοντέλα QSAR, το συγκεκριμένο έχει δώσει έμφαση στη διασφάλιση ότι τα μοντέλα αυτά παράγουν κατανοητά, αναπαραγώγιμα και επαληθεύσιμα αποτελέσματα. Αυτό συμβαίνει καθώς μία σειρά εργαλείων έχει βελτιστοποιηθεί έτσι ώστε να μπορεί να συσχετίσει τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για μία συγκεκριμένη χημική ουσία που μας ενδιαφέρει, με τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για χημικά παρόμοιες ενώσεις. Το παραπάνω λογισμικό είναι η ιδανική εφαρμογή για μαζική επεξεργασία μεγάλου συνόλου δεδομένων.

8.2 Αλλεργίες

Το πλήθος των χημικών ουσιών που περιέχονται στα καλλυντικά καθιστά ιδιαίτερος δύσκολη την εύρεση του αλλεργιογόνου συστατικού που ευθύνεται για την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών. Ως αλλεργία από καλλυντικά, μπορούμε να χαρακτηρίσουμε την παρουσία ορισμένων ανεπιθύμητων ενεργειών ή την ευαισθητοποίηση μίας περιοχής μετά από χρήση ενός καλλυντικού προϊόντος στη συγκεκριμένη περιοχή. Στις μέρες μας, οι ποιοτικοί έλεγχοι των βιομηχανικών καλλυντικών είναι σχολαστικοί και ποικίλουν οι διαδικασίες με αποτέλεσμα συνήθως να μην προκαλείται κάποιο τέτοιο περιστατικό. Ωστόσο, οι αλλεργίες εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό και από την ιδιοσυγκρασία του κάθε ατόμου. Τα πιο συνηθισμένα αλλεργιογόνα συστατικά των καλλυντικών, είναι τα αρώματα, οι χρωστικές και τα συντηρητικά (Alani, et al., 2013).

8.2.1 Τροφοδότηση αλλεργιών από ορισμένα καλλυντικά

Αλλεργική δερματίτιδα εξ' επαφής: Πρόκειται για μία βραδεία, κυτταρική αντίδραση υπερευαισθησίας. Η ευαισθητοποίηση του δέρματος είναι το τοξικολογικό τελικό σημείο που σχετίζεται με χημικές ουσίες που έχουν την εγγενή ικανότητα να προκαλούν αλλεργία στο δέρμα, που ονομάζεται αλλεργική δερματίτιδα εξ' επαφής (ACD) στους ανθρώπους. Σχετίζεται άμεσα με τα κύτταρα Langerhans της επιδερμίδας, τα οποία φέρουν ειδικούς μοριακούς υποδοχείς απαραίτητους για τη σύνδεσή τους με αντιγόνα και άλλους απαραίτητους για τη σύνδεσή τους με T – λεμφοκύτταρα. Στην επιδερμίδα, συνδέονται αρχικά με αντιγόνα και στη συνέχεια τα μεταφέρουν σε γειτονικούς λεμφαδένες όπου τα «παρουσιάζουν» σε «μη ευαισθητοποιημένα» T – λεμφοκύτταρα. Αυτό, έχει ως αποτέλεσμα, τη μετατροπή «μη ευαισθητοποιημένων» T – λεμφοκυττάρων, σε «ευαισθητοποιημένα» μέσα σε διάστημα 5 – 21 ημερών (Fitzpatrick, et al., 2007). Έτσι, τα τελευταία είναι ικανά σε νέα επαφή με το αντιγόνο, να το αναγνωρίσουν και να πολλαπλασιαστούν οδηγώντας σε εκζεματοποίηση της περιοχής μεταξύ 48 – 72 ωρών από

την πρώτη έκθεση. Σε αυτή τη διαδικασία βασίζεται και η αρχή λειτουργίας των επιδερμικών δοκιμασιών που θα αναφερθούν στη συνέχεια. Η κλινική εικόνα της αλλεργικής δερματίτιδας, είναι κοινή ανεξαρτήτως της ουσίας που την προκάλεσε και χαρακτηρίζεται από ερυθρότητα, οίδημα, βλατίδες, φυσαλίδες και κνησμό. Αρχικά τα συμπτώματα εμφανίζονται στην περιοχή όπου εφαρμόστηκε το υπεύθυνο αλλεργιογόνο εάν όμως δεν αντιμετωπιστούν εγκαίρως, είναι πιθανό να επεκταθούν.

Φωτοαλλεργική δερματίτιδα: Η φωτοαλλεργική δερματίτιδα αποτελεί υποκατηγορία της φωτοδερματίτιδας μαζί με την φωτοτοξική δερματίτιδα. (Κουτσελίνη & Μουλοπούλου - Καρακίτσου, 1984). Η πρώτη, εκδηλώνεται σαν αλλεργική αντίδραση σε κάποια ουσία που περιέχεται στο προϊόν και μπορεί να μετατραπεί σε δυνητικά φωτοευαίσθητο ουσία, παρουσία ηλιακού φωτός. Αυτό, πρακτικά σημαίνει ότι η ουσία που περιέχεται στο καλλυντικό, υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν έχει αλλεργιογόνο δράση, όταν όμως εκτεθεί στην υπεριώδη ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει φωτοαλλεργική δερματίτιδα σε άτομα με αλλεργική ευαισθησία. Τα συμπτώματά της συνήθως εκδηλώνονται μετά από 48 ώρες από την πρώτη επαφή με το αλλεργιογόνο. Το δέρμα παρουσιάζει ερυθρότητα, κνησμό, οίδημα, απολέπιση ή/και φυσαλίδες γι' αυτό συχνά κατά την κλινική εξέταση συγχέεται και με την φωτοτοξική δερματίτιδα.

8.2.2 Κοινές δοκιμασίες για την πρόβλεψη αλλεργιών

Η διάγνωση της αλλεργίας που προκλήθηκε από καλλυντικό προϊόν, επιβεβαιώνεται συνήθως με την επανεξέταση του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και των ευρημάτων της φυσικής εξέτασης και επιβεβαιώνεται με ορισμένες δοκιμές. Η πιο διαδεδομένη είναι τα λεγόμενα «Patch Tests» ή αλλιώς αληθείς επιδερμικές δοκιμασίες. Η συγκεκριμένη μέθοδος, είναι η τυπική μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των αλλεργιογόνων που προκαλούν αλλεργική δερματίτιδα εξ' επαφής επαφής (ACD). Πιο αναλυτικά, εφαρμόζεται μία σειρά προκαθορισμένων αλλεργιογόνων σε συγκεκριμένα σημεία της άνω ράχης. Μετά από 48 ώρες οι λωρίδες αφαιρούνται και γίνεται μία πρώτη εκτίμηση των αντιδράσεων. Καθώς οι αλλεργικές αντιδράσεις όπως προαναφέρθηκε είναι βραδέως χαρακτήρα, γίνονται επιπλέον εκτιμήσεις μετά από 72 ώρες, 96 ώρες ή ακόμη και μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή. Το μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι εξετάζει μόνο 24 διαφορετικά αλλεργιογόνα. Παρεμφερής μέθοδος για την εύρεση αλλεργιογόνων που στερείται το συγκεκριμένο μειονέκτημα είναι η μέθοδος θαλάμου Finn, κατά την οποία με παρόμοιο τρόπο τοποθετείται μικρή ποσότητα αλλεργιογόνου σε ατομικές αλουμινένιες θήκες που είναι κολλημένες σε λωρίδα χαρτιού. Στη συνέχεια τοποθετούνται στα

προκαθορισμένα σημεία της ράχης και γίνονται οι εκτιμήσεις όπως και στην προηγούμενη μέθοδο. Παρά την εξέλιξη αυτών των μεθόδων, αυτές ανιχνεύουν μόνο το 75 – 80% των συχνότερων αλλεργιών. Γι' αυτό, συχνά απαιτούνται επιπλέον δοκιμασίες με πιο ειδικά αλλεργιογόνα όμως μόνο για γνωστά υλικά και σε καθορισμένες συγκεντρώσεις. Τέλος υπάρχουν και τα λεγόμενα «open tests», ή αλλιώς ανοιχτές δοκιμασίες, κατά τις οποίες ο ίδιος ο ασθενής, εφαρμόζει επανειλημμένα στο αντιβράχιο σε περιγεγραμμένο σημείο, το αλλεργιογόνο που πιστεύεται ότι προκάλεσε την ευαισθητοποίηση. Το σημείο δεν καλύπτεται και μετά από ορισμένες ημέρες γίνεται εκτίμηση των συμπτωμάτων. Το γεγονός ότι δεν υπάρχει επικάλυψη πάνω από την ουσία ελαττώνει σημαντικά τον κίνδυνο ερεθισμού και απορρόφησης επομένως θα μπορούσαμε να πούμε ότι δεν είναι τόσο αξιόπιστο όσο οι πιο διαδεδομένες μέθοδοι.

8.2.3 In silico πρόβλεψη αλλεργιών που οφείλονται σε καλλυντικά

Οι δοκιμασίες πρόβλεψης για τον προσδιορισμό και τον χαρακτηρισμό ουσιών που προκαλούν ευαισθητοποίηση του δέρματος, ιστορικά βασίστηκαν σε δοκιμές σε ζώα. Πέρα από το ηθικό κομμάτι που καθιστά αναγκαία τη χρήση νέων εναλλακτικών μεθόδων, αρκετοί υποστηρίζουν ότι μέσω in vivo πειραμάτων δεν αντικατοπτρίζεται επακριβώς η διείδυση των χημικών ουσιών και ο μεταβολισμός αυτών στο ανθρώπινο δέρμα. Ωστόσο αυτή η άποψη δεν έχει διερευνηθεί εκτενώς. Έτσι, οι επιστήμονες έχουν οδηγηθεί στην ανάπτυξη νέων μεθόδων χωρίς τη χρήση ζώων για την πρόβλεψη ορισμένων αλλεργιών. Οι νέες αυτές μέθοδοι, αντικατοπτρίζουν στην πραγματικότητα τους βασικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην ευαισθητοποίηση του δέρματος. Φαίνεται ότι καμία μεμονωμένη προσέγγιση δεν μπορεί να προβλέψει την ευαισθητοποίηση και ότι θα είναι απαραίτητη η ενσωμάτωση πολλαπλών μορφών δεδομένων και πληροφοριών. Παρόλο που πλέον έχουν αναπτυχθεί και αξιολογηθεί εναλλακτικές μέθοδοι, χωρίς τη χρήση ζώων, για την αναγνώριση του κινδύνου ευαισθητοποίησης και παρά τις δημοσιεύσεις που δείχνουν ότι πράγματι λειτουργούν αποτελεσματικά, καμία από αυτές τις δοκιμές δεν έχει επικυρωθεί επισήμως.

Τα δεδομένα για τον χαρακτηρισμό κινδύνου ενός συστατικού, συγκεκριμένα για τη σχετική ισχύ⁶ του, χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με τις πληροφορίες για την συνιστώμενη έκθεση του ανθρώπου σε αυτό το συστατικό, έτσι ώστε να γίνει η πρόβλεψη του κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία. Για την αξιολόγηση του κινδύνου ευαισθητοποίησης δέρματος, απαιτείται

⁶ Η ικανότητα της ουσίας να προκαλέσει ευαισθητοποίηση του δέρματος.

ένα πρόγραμμα, με ικανό λογισμικό ώστε να αναγνωρίζει και να χαρακτηρίζει ταυτόχρονα την πιθανή ισχύ ευαισθητοποίησης και τη σχετική ισχύ των χημικών ουσιών, επιτρέποντας έτσι την πρόβλεψη ασφαλών επιπέδων έκθεσης του ανθρώπου στα πλαίσια χρήσης του προϊόντος. Με αυτό τον τρόπο θα αποφεύγονται πλήρως πειραματικές μελέτες με χρήση ζώων, θα ενισχύεται η καινοτομία των βιομηχανιών καλλυντικών, ενώ συγχρόνως θα εξασφαλίζεται η ασφάλεια των καταναλωτών. Παρά την ανάπτυξη πολλών εναλλακτικών μεθόδων, τα υπάρχοντα δεδομένα δεν επαρκούν για την αξιολόγηση κινδύνου αλλά θα πρέπει σίγουρα για τον σχεδιασμό τους να δοθεί έμφαση σε τρία βασικά στοιχεία:

1. Στη μηχανική συνάφεια με την ευαισθητοποίηση του δέρματος.
2. Στη συνεισφορά του προσδιορισμού της σχετικής ισχύος.
3. Στην απόδειξη αξιοπιστίας (ανθεκτικότητα, αναπαραγωγιμότητα).

Ορισμένα *in silico* εργαλεία που έχουν αναπτυχθεί για την εκτίμηση ευαισθητοποίησης του δέρματος είναι τα εξής:

Toxtree: Πρόκειται για λογισμικό εργαλείο που διατίθεται δωρεάν και η λειτουργία του βασίζεται σε μοντέλα QSAR (European Commission, 2016). Το συγκεκριμένο πρόγραμμα, ομαδοποιεί τις χημικές ουσίες και στη συνέχεια τα δεδομένα που έχει χρησιμοποιήσει μπορούν να αναλυθούν περαιτέρω έτσι ώστε να καλύψουν τυχόν κενά στην ευαισθητοποίηση δέρματος που έχει προκληθεί από ουσίες αυτής της κατηγορίας. Εκτός αυτού, μπορεί να προβλέψει διάφορα είδη τοξικών επιδράσεων. Συγκεκριμένα τα βήματα για τη χρήση αυτού του λογισμικού είναι τα εξής:

1. Ο χρήστης κατεβάζει το λογισμικό στον υπολογιστή του.
2. Μόλις ανοίξει το πρόγραμμα, επιλέγει από το πάνω αριστερό μέρος της οθόνης την ένδειξη «αρχείο» και στη συνέχεια πατά «νέο μόριο».
3. Έπειτα επιλέγει στο επάνω μέρος της οθόνης «χημικές ενώσεις» και «επεξεργασία ενώσεων». Τότε εμφανίζεται ένα νέο παράθυρο στο οποίο ο χρήστης μπορεί είτε να σχεδιάσει τη χημική δομή μίας ουσίας είτε να εισάγει έναν κωδικό SMILES. Ο κωδικός αυτός, είναι ένας μοριακός κωδικός κειμένου της εμφανιζόμενης χημικής δομής, ο οποίος προαπαιτείται για την είσοδο σε αρκετά QSAR μοντέλα. Σε περίπτωση που ο χρήστης θέλει να εισάγει στο πρόγραμμα μία εντελώς καινούρια χημική ένωση, θα πρέπει πρώτα να σχεδιάσει τη χημική δομή της μέσω ενός εμπορικού λογισμικού και τότε αυτό θα του δώσει τον αντίστοιχο κωδικό.

4. Αφού ο χρήστης έχει ολοκληρώσει την παραπάνω διαδικασία επιλέγει το πλαίσιο «εκτίμηση» στα δεξιά και εμφανίζεται στην οθόνη με κόκκινο χρώμα η ομάδα στην οποία ανήκει η ουσία που αναζητά. Σε περίπτωση που ενδιαφέρεται για περισσότερες πληροφορίες, αυτές δίνονται στο παράθυρο αποτελεσμάτων.
5. Τέλος, εάν το επιθυμεί, ο χρήστης μπορεί να αποθηκεύσει την ομαδοποίηση της συγκεκριμένης ουσίας για μελλοντική χρήση.

Το λογισμικό Toxtree ομαδοποιεί τις χημικές ουσίες σε τρεις κατηγορίες βάσει ορισμένων χαρακτηριστικών. Πιο αναλυτικά, στην πρώτη (I) ομάδα ανήκουν ουσίες απλής χημικής δομής με γνωστές μεταβολικές οδούς και αβλαβή τελικά προϊόντα που υποδηλώνουν χαμηλή τοξικότητα. Στη δεύτερη (II) κατηγορία ανήκουν ενδιάμεσες ουσίες, δηλαδή, διαθέτουν δομές λιγότερο αβλαβείς από αυτές της πρώτης κατηγορίας, όμως δεν περιέχουν τα δομικά χαρακτηριστικά που υποδηλώνουν τοξικότητα όπως εκείνα της τρίτης κατηγορίας. Στην τρίτη (III) και τελευταία κατηγορία ανήκουν ουσίες που δεν επιτρέπουν καμία αρχική εντύπωση ασφαλείας και συνήθως υποδηλώνουν σημαντική τοξικότητα (Chem Safety Pro, 2018).

OECD QSAR Toolbox: Ο Οργανισμός Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης (ΟΟΣΑ ή OECD), προσπάθησε να αυξήσει την αποδοχή των μοντέλων QSAR στις κανονιστικές ρυθμίσεις, αναπτύσσοντας ένα εργαλείο που τα καθιστά ευκόλως προσβάσιμα με μικρότερο κόστος υποδομής. Το συγκεκριμένο εργαλείο χρησιμοποιεί μοντέλα QSAR για την ομαδοποίηση των χημικών ουσιών ανά χημική κατηγορία βάσει κοινών ή παρόμοιων φυσικοχημικών ή/και περιβαλλοντικών ιδιοτήτων. Είναι πολύ σημαντικό σε μία κατηγορία να διατυπώνονται οι ορισμοί των χημικών ουσιών που περιλαμβάνονται σε αυτή και να ορίζεται ο χημικός χώρος της κάθε κατηγορίας. Για την πλήρωση των κενών δεδομένων, είναι απαραίτητη προϋπόθεση να υπάρχουν δεδομένα μετρήσεων για τουλάχιστον μία χημική ουσία στη συγκεκριμένη κατηγορία. Το παραπάνω πρόγραμμα χρησιμοποιείται κυρίως για την πρόβλεψη ευαισθητοποίησης δέρματος από μία χημική ουσία και οι βασικές του ιδιότητες είναι οι εξής:

1. Ο προσδιορισμός των σχετικών δομικών χαρακτηριστικών και του πιθανού μηχανισμού ή του τρόπου δράσης της χημικής ουσίας που μας ενδιαφέρει.
2. Ο προσδιορισμός άλλων χημικών ουσιών που έχουν ίδια δομικά χαρακτηριστικά ή/και τρόπο δράσης με την χημική ουσία που μελετάμε.

3. Η χρήση των υπάρχοντων πειραματικών δεδομένων για την κάλυψη κενών δεδομένων όπου υπάρχουν.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κατά την άποψη μου, η ανάπτυξη των *in silico* μεθόδων για την έρευνα νέων καλλυντικών προϊόντων ή νέων χημικών ουσιών σε καλλυντικά σκευάσματα, θα πρέπει να αποτελέσει προτεραιότητα των καλλυντικών βιομηχανιών. Τα συγκεκριμένα, *in silico*, εργαλεία ξεκίνησαν να αναπτύσσονται κυρίως στον κλάδο της ιατρικής και της φαρμακευτικής για μελέτες νέων θεραπειών ή νέων ουσιών σε φάρμακα αντίστοιχα, όπου δικαίως οι ερευνητές ξεκίνησαν να δαπανούν πλήθος πόρων ώστε να έχουν τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα. Ήδη από το 2011 σύμφωνα με τους (Adler, et al., 2011), δινόταν έμφαση στο ότι αξίζει να εξεταστεί η χρήση υπολογιστικών μεθόδων στον κλάδο της κοσμητολογίας, ωστόσο έπρεπε πρώτα να αναπτυχθούν οι κατάλληλες βάσεις δεδομένων. Με το πέρασμα των χρόνων που η τεχνολογία αποτελεί όλο και περισσότερο αναπόσπαστο κομμάτι της καθημερινότητάς μας, θα πρέπει να μάθουμε και να τη χρησιμοποιούμε προς όφελός μας σε κάθε δυνατό τομέα. Πιστεύω λοιπόν και εγώ ότι ο κλάδος της κοσμητολογίας αξίζει να δαπανήσει πλήθος πόρων ώστε να αναπτύξει αυτές τις εναλλακτικές μεθόδους. Εάν αναλογιστεί κανείς τις πολυάριθμες μελέτες που γίνονται σε ζώα για την ανάπτυξη ενός καλλυντικού προϊόντος, εύκολα αντιλαμβάνεται ότι για όλα τα καλλυντικά που κυκλοφορούν, έχει χρησιμοποιηθεί τεράστιος αριθμός τρωκτικών. Μπορεί στην Ευρώπη να έχει απαγορευθεί βάσει του νόμου 2013, του κανονισμού 1223/2009 της Ευρωπαϊκής Ένωσης η χρήση ζώων για τα περισσότερα πειραματικά στάδια, καθώς και η εμπορία καλλυντικών για τα οποία έχουν γίνει δοκιμές σε ζώα, όμως αυτό είναι κάτι που δε συμβαίνει δυστυχώς σε παγκόσμιο επίπεδο προς το παρόν. Παρ'όλα αυτά γίνονται διαρκείς προσπάθειες, με αποτέλεσμα να θεσπιστούν πρόσφατα παρόμοιες νομοθεσίες στο Ισραήλ, την Ινδία και την Καλιφόρνια. Η διαρκής διερεύνηση των εξελίξεων στη βιοϊατρική έρευνα και τις βασικές βιολογικές επιστήμες θα οδηγήσει αδιαμφισβήτητα στην ταχύτερη πρόοδο. Δεν είναι απίθανο, στο μέλλον οι εκτιμήσεις για την ασφάλεια της ανθρώπινης υγείας να μπορούν να πραγματοποιηθούν χωρίς τη χρήση ζώων, ωστόσο αυτό θα απαιτήσει όχι μόνο χρόνο αλλά και συνεχή έρευνα, ανάπτυξη και καινοτομία σε αυτό τον κλάδο. Ήδη η έρευνα και ανάπτυξη μη ζωικών δοκιμών έχει αποδώσει πολλές ελπιδοφόρες προσεγγίσεις τόσο σε δημόσιο (π.χ. ερευνητικά προγράμματα) όσο και σε ιδιωτικό τομέα, όμως θα πρέπει να μελετηθούν περαιτέρω (Adler, et al., 2011). Όλα τα μοντέλα και οι προσομοιώσεις απαιτούν σωστά και αναπαραγώγιμα πειραματικά δεδομένα έτσι ώστε να επαληθευτούν. Υπάρχει

ευρεία συμφωνία ότι τα *in silico* μοντέλα πρέπει να είναι επικυρωμένα και επιστημονικά έγκυρα εάν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν στην κανονιστική αξιολόγηση χημικών ουσιών και όχι μόνο στις ρυθμίσεις εσωτερικών αποφάσεων. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, η έννοια του επιστημονικά έγκυρου μοντέλου ενσωματώνεται στο κείμενο του κανονισμού REACH (Raunio, 2011). Η περαιτέρω ανάπτυξη των *in silico* εργαλείων μπορεί έστω και μακροπρόθεσμα να μειώσει σημαντικά τις μελέτες σε εθελοντές ή πειραματόζωα (η χρήση πειραματόζωων για μελέτες τα καλλυντικών προϊόντων/κοσμητικών συστατικών επιτρέπεται μόνον σε εξαιρετικές περιπτώσεις). Μπορεί μέχρι να αναπτυχθεί ένα ικανοποιητικό λογισμικό που να πληρεί όλες τις προϋποθέσεις για μία σωστή έρευνα να απαιτείται όγκος εργασίας και εξόδων ωστόσο, άπαξ και συμβεί αυτό, πρόκειται για μία σαφώς πιο οικονομική μέθοδο. Αυτό, γιατί στο ίδιο πειραματικό περιβάλλον θα μπορεί ο χρήστης να αλλάξει σε δευτερόλεπτα με ένα «κλικ» τις συνθήκες της προσωμοίωσής του ενώ συγχρόνως θα εξοικονομεί χρόνο. Ίσως σε πρώτο στάδιο, ένα τέτοιο λογισμικό να είναι δύσκολο να μας βοηθήσει στον εντοπισμό της βέλτιστης δυνατής ουσίας που μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε σε ένα νέο καλλυντικό προϊόν/ιατροτεχνολογό ή και φαρμακευτικό προϊόν, όμως ενδεχομένως να διευκολύνει την έρευνά μας αποκλείοντας ουσίες που είναι ακατάλληλες για τη μελέτη που εκτελούμε. Εκτός αυτού, παρέχει στο χρήστη δυνατότητα διαρκούς βελτίωσης έτσι ώστε να μπορεί να εξελίξει το λογισμικό του εύκολα και να προσαρμόσει στις νέες συνθήκες την έρευνά του. Σύμφωνα με τους (Gellatly & Sewell, 2019), πρόκληση αποτελεί η επισήμανση των προκλήσεων στις *in silico* προσεγγίσεις που αποσκοπεί στην ευρύτερη εφαρμογή τους κυρίως στη βιομηχανία των καλλυντικών αλλά και η πρόταση για το πώς να ξεπεραστούν οι όποιες δυσκολίες κυρίως με αναφορά στην Ευρωπαϊκή νομοθεσία. Συνοψίζοντας λοιπόν η διαρκής έρευνα και ανάπτυξη των υπολογιστικών εργαλείων σε συνδυασμό με την αποδεδειγμένη αξιοπιστία και την κατάλληλη τεκμηρίωση θα μπορέσει να υποστηρίξει την ανάπτυξη ολοκληρωμένων δοκιμών με απότερο σκοπό την πλήρη αντικατάσταση των δοκιμών σε ζώα.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία προτάθηκε η χρήση των υπολογιστικών (*in silico*) προσεγγίσεων, ως εναλλακτικό εργαλείο στην έρευνα και ανάπτυξη καλλυντικών προϊόντων. Το βασικό συμπέρασμα αυτής της έρευνας, όπως προκύπτει από τη βιβλιογραφία που μελετήθηκε, είναι ότι οι υπολογιστικές (*in silico*) προσεγγίσεις,

αποτελέσαν τη λύση στην ανάγκη των καλλυντικών βιομηχανιών να υιοθετήσουν νέες μεθόδους, χωρίς τη χρήση ζώων, προσφέροντάς τους συγχρόνως πολυάριθμα οφέλη.

Πρόκειται για μία μέθοδο απολύτως αντικειμενική, που παρέχει ποικιλία διαφορετικών εργαλείων τα οποία μπορούν να συνδυάσουν πλήθος προσεγγίσεων πιο έξυπνα απ'ότι μία σειρά πειραματικών δοκιμών. Οι *in silico* μελετές στη βιομηχανία καλλυντικών προς το παρόν χρησιμοποιούνται κυρίως για τη λήψη εσωτερικών αποφάσεων όπως είναι για παράδειγμα ο έλεγχος υποψήφιων μορίων και όχι στα πλαίσια των κανονιστικών ρυθμίσεων. Ωστόσο, καθώς αυξάνεται η εμπιστοσύνη στην εφαρμοσιμότητά τους, η διαθεσιμότητα αλλά και η εμπειρία στη χρήση τους αυτό είναι πολύ πιθανό να αλλάξει στο άμεσο μέλλον, αφού τα καθιστά αξιόπιστα εργαλεία. Αυτό θα έχει σύντομα ως αποτέλεσμα να βλέπουμε όλο και περισσότερα αποτελέσματα *in silico* μεθόδων να ενσωματώνονται στα έγγραφα αξιολόγησης κινδύνου ως υποστηρικτικά δεδομένα. Στο πιο μακρινό μέλλον, μπορεί να δούμε μια σταδιακή αντικατάσταση κάποιων κλασικών *in vivo* δοκιμών με μεθόδους *in silico*. Στην ιδανική περίπτωση τα αποτελέσματα *in silico* μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αυτόνομα αποδεικτικά στοιχεία για κανονιστικούς σκοπούς εάν θεωρηθούν σχετικά αξιόπιστα και επαρκή για το σκοπό αυτό με την κατάλληλη φυσικά τεκμηρίωση. Επιπλέον, οι νέες αυτές τεχνολογίες καθώς χρησιμοποιούνται για τη μοντελοποίηση των αλληλεπιδράσεων διαφορετικών βιολογικών συστημάτων και συνδέουν τις τοξικές επιδράσεις μίας χημικής ουσίας με τη δομή της ή με άλλες παραμέτρους, υπόσχονται πολλά στην τοξικολογία σχετικά με το πώς οι τοξικές ουσίες φθάνουν στα στοχευμένα κύτταρα. Παρ'όλα αυτά, είναι ιδιαίτερος σημαντικό να γνωστοποιείται με σαφήνεια το μέγεθος της αβεβαιότητας του κάθε προγράμματος ώστε να το γνωρίζει εξ' αρχής ο χρήστης. Τέλος, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στο πρόγραμμα που θα χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη συστατικών σε καλλυντικά να έχει σχεδιαστεί ειδικά γι' αυτό το σκοπό και όχι π.χ. για φάρμακα καθώς είναι πολύ σημαντικοί παράμετροι όπως η απορρόφηση του δέρματος αλλά και ο μεταβολισμός.

Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Οι προτάσεις για μελλοντική έρευνα συνοψίζονται στις εξής:

1. Διερεύνηση περαιτέρω πλεονεκτημάτων στο κομμάτι της τοξικολογίας αλλά και της χρήσης 3R (αντικατάστασης, μείωσης και βελτίωσης της χρήσης ζώων, στις περιπτώσεις που επιτρέπεται η χρήση ζώων) μέχρι την πλήρη αντικατάστασή τους.

2. Μελέτη νέων δραστικών ουσιών που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε αντιγηραντικά προϊόντα.
3. In silico μελέτη για την αντίδραση του καλλυντικού προϊόντος με τα υλικά συσκευασίας π.χ μοντελοποίηση της αντίδρασης μίας χημικής ουσίας όταν έρθει σε επαφή με πλαστικό ή γυαλί.
4. Ανάπτυξη προγραμμάτων για τη μελέτη βοτανικών εκχυλισμάτων και ουσιών φυτικής προέλευσης που θα χρησιμοποιούν τις κατάλληλες συνδυαστικές μεθόδους.
5. Περαιτέρω ανάπτυξη μεθόδων για την πρόβλεψη ανεπιθύμητων ενεργειών.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Τσιγώνια Α., Μικελάτου Ε. Μακιγιάζ παραστατικών τεχνών. Δεσμός. Αθήνα. 2010:17-21.
2. Μουντρίχας Γ. (2016). Η επιστήμη πίσω από τα καλλυντικά: Από το εργαστήριο στον καταναλωτή: <https://helioseie.ekt.gr/EIE/handle/10442/15217> (Πρόσβαση 06/2020).
3. Ράλλης Ε. (2018). Βασικά στοιχεία ανατομίας - φυσιολογίας δέρματος: <https://docplayer.gr/73249534-Eystathios-rallis-epik-kathigitis-dermatologias-afrod-gias.html> (Πρόσβαση 07/2020).
4. Βαρβαρέσου Α. Ειδική Κοσμητολογία. Κανκός. Αθήνα. 2011: 83-85.
5. Γραμματικόπουλος Γ., Κουσκούκης Κ.: Δερματική απορρόφηση φαρμάκων και καλλυντικών. Ιατρική Παιδεία. 1998; 6:60-64.
6. Τσιρίβας Ε., Βαρβαρέσου Α., Παπαγεωργίου Σ. Εφαρμοσμένη Κοσμητολογία – Δερμοκαλλυντικά. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου. Αθήνα. 2016;63.
7. ECHA (2008). Κατανόηση του REACH: <https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/understanding-reach> (Πρόσβαση 10/2020)
8. Ξανθόπουλος Κ., Βαρβαρέσου Α., Παπακυριακού Α. και Καρακλούσος Π. Εναλλακτικές μέθοδοι εκτίμησης ανεπιθύμων ενεργειών καλλυντικών (in silico-non animal testing) Επιθεώρηση Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακοκινητικής. 2020; 38: 73-78
9. Κομίνη Ε., Κυριαζή Μ., Ράλλης Μ.: Αξιολόγηση τοξικότητας καλλυντικών προϊόντων και συστατικών αυτών. Το Καλλυντικό. 2016; 35: 22-27.
10. Fitzpatrick J.E., Aeling J.L., Κατσάμπας Α. Secrets Δερματολογίας. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης. Αθήνα. 2007; 84-89.
11. Κουτσελίνη Α., Μουλοπούλου – Καρακίτσου Κ., Καλλυντικά. Gutenberg. Αθήνα. 1984; 96-97.

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Madden J.C., Webb S.D., Enoch S.J., Colley H.E., Murdoch C., Shipley R., et al. (2017). In Silico Prediction of Skin Metabolism and its Implication in Toxicity Assessment:
https://www.researchgate.net/publication/318202915_In_Silico_Prediction_of_Skin_Metabolism_and_its_Implication_in-Toxicity_Assessment (Πρόσβαση 04/2020).
2. Martin R.J., Denyer S.P., Hadgraft J. (1987). Skin metabolism of topically applied compounds. International Journal of Pharmaceutics:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378517387901943> (Πρόσβαση 08/2020).
3. Tsantili-Kakoulidou A., Varvaresou A., Siatra-Papastaikoudi Th., Raevsky O. A A Comprehensive Investigation of the Partitioning and Hydrogen Bonding Behavior of Indole Containing Derivatives of 1,3,4-Thiadiazole and 1,2,4-Triazole by Means of Experimental and Calculative Approaches *Quantative Structure Activity Relationship*. 1999; 18: 482-489.
4. Adler S., Basketter D., Creton S. (2011). *Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: Current status and future prospects—2010*:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-011-0693-2> (Πρόσβαση 09/2020).
5. Raunio H.: In silico toxicology - non testing methods. *Frontiers in pharmacology*. 2011; 2:1-5.
6. SCCS, Scientific Committee on Consumer (2018). The SCCS notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation (10th revision):
https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_224.pdf (Πρόσβαση 04/2020).
7. Alani J., Davis M.D., Yiannias J.A. (2013): Allergy to cosmetics: a literature review: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24201464/> (Πρόσβαση 11/2020).
8. European Commission (2016): EU Science Hub: <https://ec.europa.eu/jrc/en> (Πρόσβαση 09/2020).
9. Chem Safety Pro (2018): How to use Toxtree to determine Cramer Class and estimate toxic hazard:

[https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/How to Use Toxtree to Determine Cramer Class and Estimate Toxic Hazard.html](https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/How_to_Use_Toxtree_to_Determine_Cramer_Class_and_Estimate_Toxic_Hazard.html) (Πρόσβαση 11/2020).

10. Gellatly N., Sewell F., Computational Toxicology. 2019; 82-89.

