

УДК 615.263.63+616.594.1+616.092.9

<https://doi.org/10.24959/ubphj.19.217>М. І. Федоровська¹, Н. П. Половко², О. В. Антимис¹¹Івано-Франківський національний медичний університет²Національний фармацевтичний університет

Вивчення фолікулостимулюючої дії м'яких лікарських косметичних засобів на моделі андрогенної алопеції у щурів

Актуальність. Андрогенна алопеція (АА) – прогресуюче облісіння, викликане впливом андрогенів на волосний фолікул (ВФ), що розвивається у осіб з генетичною схильністю. Одним з важливих підходів до терапії АА є місцеве застосування фітопрепаратів, що містять фітостероли (антиандрогенна дія) та флавоноїди (капілярнопротекторна, венотонізуюча, антиоксидантна дія).

Мета дослідження – вивчення фолікулостимулюючої активності крем-маски та гель-маски з пальми сабаль екстрактом сухим (ПСЕС) та софори японської настойкою на моделі андрогенної алопеції у щурів.

Матеріали та методи. Дослідження фолікулостимулюючої активності м'яких лікарських косметичних засобів (ЛКЗ) здійснювали на моделі андрогенної алопеції. Для цього дорослим щурам самцям щоденно впродовж 10 днів вводили тестостерон внутрішньом'язово (0,1 мл/0,01-1,0 мг). Тоді тваринам на вистрижену ділянку спини щоденно впродовж 21 дня наносили розроблені ЛКЗ та препарат порівняння (2 % розчин міноксидилу); контрольна група – неліковані тварини. Ефективність дії ЛКЗ оцінювали за масою вистриженої нової шерсті, а також за результатами морфометричного аналізу густини ВФ на одиниці площі зразків шкіри.

Результати та їх обговорення. Проведені дослідження показали, що при нашкірному застосуванні м'яких ЛКЗ маса шерсті щурів з вистриженої ділянки шкіри значно перевищувала масу шерсті нелікованих тварин та перебувала в однакових межах у порівнянні з тваринами, яких лікували референт-препаратом. Гістологічними дослідженнями доведено, що інтенсивність відновлення росту ВФ у піддослідних групах була значно вищою в порівнянні з групою контролю.

Висновки. Таким чином, розроблені крем-маска та гель-маска з ПСЕС та софори японської настойкою при місцевому застосуванні виявляли виражену фолікулостимулюючу дію.

Ключові слова: андрогенна алопеція; лікарські косметичні засоби; пальма сабаль; софора японська; доклінічні дослідження; фолікулостимулююча дія

M. Fedorovska¹, N. Polovko², O. Antymys¹¹Ivano-Frankivsk National Medical University²National University of Pharmacy

Investigation of follicle stimulating effect of medical cosmetic remedies on the androgen alopecia model in rats

Topicality. Androgenic alopecia (AA) is a progressive baldness caused by the effect of androgens on the hair follicle (HF) that develops in people with genetic predisposition. One of the important approaches to AA therapy is the cutaneous application of plant remedies containing phytosterols (antiandrogenic action) and flavonoids (capillary protective, vascular stimulating, antioxidant action).

Aim. To study the follicle stimulating activity of a cream-mask and gel-mask with *Serenoa repens* dry extract (SRDE) and *Sophora japonica* tincture on the androgenic alopecia model in rats.

Materials and methods. Investigation of follicle stimulating activity of soft medical cosmetic remedies (MCR) on the androgenic alopecia model was carried out. For this, adult male rats were daily injected with intravenous testosterone (0.1 ml/0.01-1.0 mg) during 10 days. Then the developed MCR and the comparative drug (2 % solution of minoxidil) were daily applied on animals' shaved area for 21 days; the control group – untreated animals. The MCR effectiveness was evaluated by measuring the mass of shaved new rat fur. Also the morphometric analysis results of HF density per unit area of skin samples were considered.

Results and discussion. The obtained results have shown the rat fur mass from the shaved skin of the animals with the cutaneously applied soft MCR significantly exceeded the rat fur mass from untreated animals and was in the same range in comparison to animals treated with the referent drug. Histologic studies have proved the intensity of HF growth restoration in the experimental groups was significantly higher than the control group.

Conclusions. Thus, the developed cream-mask and gel-mask with SRDE and *Sophora japonica* tincture with cutaneous application showed the evident follicle stimulating effect.

Key words: androgenic alopecia; medical cosmetic remedies; *Serenoa repens*; *Sophora japonica*; preclinical studies; follicle stimulating action

М. И. Федоровская¹, Н. П. Половко², О. В. Антимис¹

¹Ивано-Франковский национальный медицинский университет

²Национальный фармацевтический университет

Изучение фолликулостимулирующего действия мягких лекарственных косметических средств на модели андрогенной алопеции у крыс

Актуальность. Андрогенная алопеция (АА) – прогрессирующее облысение, вызванное воздействием андрогенов на волосяной фолликул (ВФ), которое развивается у лиц с генетической предрасположенностью. Одним из важных подходов к терапии АА является местное применение фитопрепаратов, содержащих фитостеролы (антиандрогенное действие) и флавоноиды (капилляро- протекторное, вентонизирующее, антиоксидантное действие).

Цель исследования – изучение фолликулостимулирующей активности крем-маски и гель-маски с пальмы сабаль экстрактом сухим (ПСЭС) и софоры японской настойкой на модели андрогенной алопеции у крыс.

Материалы и методы. Исследование фолликулостимулирующей активности мягких лекарственных косметических средств (ЛКС) осуществляли на модели андрогенной алопеции. Для этого взрослым крысам самцам в течение 10 дней вводили тестостерон внутримышечно (0,1 мл/0,01-1,0 мг). Потом животным на выстриженную область спины ежедневно в течение 21 дня наносили разработанные ЛКС и препарат сравнения (2 % раствор миноксидила); контрольная группа – не леченные животные. Эффективность действия ЛКС оценивали по массе выстриженной новой шерсти, а также по результатам морфометрического анализа плотности ВФ на единицу площади образцов кожи.

Результаты и их обсуждение. Проведенные исследования показали, что при наружном применении мягких ЛКС масса шерсти крыс с выстриженных участков кожи значительно превышала массу шерсти нелеченных животных и находилась в одинаковых пределах по сравнению с животными, леченными референт-препаратом. Гистологическими исследованиями доказано, что интенсивность восстановления роста ВФ в подопытных группах была значительно выше по сравнению с группой контроля.

Выводы. Таким образом, разработанные крем-маска и гель-маска с ПСЭС и софоры японской настойкой при местном применении проявляли выраженное фолликулостимулирующее действие.

Ключевые слова: андрогенная алопеция; лекарственные косметические средства; пальма сабаль; софора японская; доклинические исследования; фолликулостимулирующее действие

ВСТУП

Андрогенна алопеція (АА) – це прогресуюча мініатюризація волоссяних фолікул (ВФ), що розвивається в осіб з генетичною схильністю. АА складає до 80 % всіх випадків облісіння у чоловіків (Male pattern hair loss) та 20-40 % – у жінок (Female pattern hair loss) [1, 2]. Ключову роль у розвитку АА відіграє взаємозв'язок між чоловічими статевими гормонами тестостероном (ТС) та дигідротестостероном (ДГТ), специфічними андрогеновими рецепторами (АР) у клітинах ВФ та ферментом 5- α -редуктазою. АА може бути обумовлена підвищеною чутливістю клітин дермального сосочка ВФ до ДГТ, збільшеною щільністю АР і/або підвищеною активністю 5 α -редуктази, яка перетворює менш дієвий ТС на 5 α -ДГТ («периферичний андрогенізм») [2, 3].

У фармакотерапії АА застосовують синтетичні та природні інгібітори 5- α -редуктази (фінастерид, кислота лауринова, фітостероли), блокатори андрогенових рецепторів (спіронолактон, флуридил, фітостероли), вентоніки та капілярпротектори (міноксидил, амінексил, настойка перцю стручкового, рутин, кверцетин, есцин та ін.) [2]. Для лікування АА управлінням з контролю за харчовими продуктами та ліками (США) (Food and Drug Administration) офіційно затверджено тільки два активних фармацевтичних інгредієнти (АФІ) синтетичного походження, а саме: периферичний вазодиліатор Міноксидил у формі 2 % та 5 % розчину для нашкірного застосування; селективний інгібітор 5- α -редуктази Фінастерид для

перорального вживання [3]. Проте зазначені АФІ володіють рядом недоліків та побічних ефектів, а саме:

- міноксидил: посилення випадіння волосся на початку лікування та після припинення застосування, зміна кольору та структури волосся, місцеві реакції гіперчутливості та системні побічні дії (запаморочення, зниження артеріального тиску, серцебиття, набряки верхніх та нижніх кінцівок);
- фінастерид: протипоказаний для жінок фертильного віку, оскільки зумовлює фемінізацію плоду; у чоловіків може розвинути імпотенція, зниження лібідо, порушення еяколяції тощо.

Численні наукові дослідження підтверджують ефективність та безпечність застосування при АА засобів рослинного походження, що є джерелом фітостеролів, флавоноїдів, тритерпенових сапонінів, кумаринів та ін. [4]. Тому на основі теоретичного обґрунтування та експериментальних досліджень нами було розроблено крем-маску та гель-маску з пальми сабаль екстрактом сухим (ПСЕС) і софори японської настойкою [5, 6]. Фітостероли плодів пальми сабаль чинять антиандрогенну дію (інгібітори 5- α -редуктази, блокатори андрогенових рецепторів) і прямо впливають на патогенез АА [7]. Плоди софори японської вмщують високу концентрацію флавоноїдів (рутин, кверцетин та ін.), які володіють вентонізуючими, капілярпротекторними, антиоксидантними властивостями [8]. Комплексна дія БАР плодів софори забезпечує посилення трофічних процесів у тканинах шкіри та відновлення росту клітин ВФ.

Таблиця 1

**ВПЛИВ КРЕМ-МАСКИ ТА ГЕЛЬ-МАСКИ З ПСЕС ТА НАСТОЙКОЮ СОФОРИ ЯПОНСЬКОЇ
НА ВІДНОВЛЕННЯ ШЕРСТІ ЩУРІВ**

| Показник | I група | II група | III група | IV група | V група |
|---------------------------------------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| Маса шерсті з вистриженої ділянки, мг | 505,5 ± 5,6 | 393,0 ± 10,5 | 494,3 ± 8,4 | 498,2 ± 9,3 | 493,0 ± 10,2 |

Примітка: * – (p < 0,05) по відношенню до II групи (неліковані щури).

Важливим етапом у створенні нової фармацевтичної продукції є проведення доклінічних досліджень для підтвердження їх ефективності. Тому **метою роботи** було вивчення фолікулостимулюючої активності розроблених м'яких лікарських косметичних засобів (ЛКЗ) на моделі андрогенної алопеції у щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єкти дослідження – крем-маска та гель-маска з ПСЕС (5 %) та софори японської настойкою (10 %), що призначені для місцевого застосування при АА.

Дослідження здійснювали відповідно до методики Matias et al. (1989) [9]. Для експерименту були відібрані рандомбредні щури-самці масою 200-250 г (5 груп по 6 особин): I група – інтактні тварини; II група – неліковані тварини; III група – ліковані препаратом порівняння (2 % розчином міноксидилу), IV-V групи – тварини, ліковані крем-маскою та гель-маскою з ПСЕС та настойкою софори японської. Тваринам II-V груп вводили тестостерон внутрішньом'язово (0,1 мл/0,01-1,0 мг) щоденно впродовж 10 днів. Після вказаного періоду у щурів повністю зістригали шерсть на ділянці спини (3 × 7 см). Тоді тваринам III групи місцево на поверхню спини наносили щоденно впродовж 21 дня препарат порівняння в кількості 0,5 мл; щурам IV і V груп наносили досліджувані ЛКЗ в технічно намащуваний дозі (близько 0,5-1,0 г). Після визначеного періоду нову шерсть повністю зістригали і зважували на вагах.

На завершальному етапі тварин піддавали евтаназії з дотриманням норм етики (після попереднього тіопентал-натрієвого наркозу внутрішньоочеревинно з розрахунку 60 мг на 1 кг маси тіла). Після декапітації у тварин проводили біопсію шкіри. Гістологічні дослідження структур шкіри здійснювали із забарвленням гематоксилином і еозином. Кількість волосяних фолікулів визначали методом морфометричного аналізу, оцінюючи густину фолікулів на одиниці площі шкіри [10]. Вивчення матеріалу проводили на мікроскопі «Delta Optical Genetic Pro» з вмонтованою камерою зі збільшенням у 200 разів. Фармако-

логічні дослідження здійснювались на базі віварію кафедри фармакології ІФНМУ. Гістологічні дослідження зразків шкіри щурів проводили на базі навчально-наукової лабораторії морфологічного аналізу кафедри анатомії людини ІФНМУ.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати впливу розроблених ЛКЗ на відновлення росту шерсті щурів представлені в табл. 1.

На 22-гу добу експерименту маса шерсті з вистриженої ділянки тіла здорових тварин I групи була найвищою і складала 505,5 ± 5,6 мг. Неліковані тварини II групи показали найменший результат щодо приросту шерсті, а саме 393,0 ± 10,5 мг. Маса шерсті щурів IV та V груп (тварини, ліковані розробленими ЛКЗ) становила 498,2 ± 9,3 мг та 493,0 ± 10,2 мг відповідно, що значно перевищувало масу шерсті нелікованих тварин. Інтенсивність відновлення росту ВФ у V-ій групі (тварини, ліковані гель-маскою) була приблизно такою, як і у III групі з препаратом порівняння (≈ 494 мг та ≈ 493 відповідно); крем-маска показала дещо вищі результати (≈ 498 мг).

Результати дослідження густини ВФ на одиниці площі шкіри щура представлені в табл. 2.

Як видно з таблиці, інтенсивність відновлення ВФ у тварин IV та V груп значно перевищує результати у нелікованих тварин II-ої групи. Так, кількість ВФ на 1 м² у шкірі щурів IV та V груп становила близько 38 та 37 ВФ у фазі анагену, а у нелікованих тварин – 23 ВФ. У шкірі інтактних тварин (I група) та лікованих препаратом порівняння (III група) густина ВФ на одиниці площі в середньому була на такому ж рівні, як і в піддослідних щурів (IV-VI груп).

На рис. показані зрізи тканин шкіри щурів, які підтверджують, що густина ВФ у контрольній групі (рис. 1Б – неліковані тварини) є значно нижчою в порівнянні з піддослідними групами (рис. 1В, 1Г) та інтактними тваринами (рис. 1А).

Отже, на моделі АА алопеції у щурів підтверджено наявність фолікулостимулюючої дії фармацевтичних розробок, яка проявилась у збільшенні маси

Таблиця 2

ГУСТИНА ВОЛОСЯНИХ ФОЛІКУЛ В 1 мм² ШКІРИ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЩУРІВ

| Група тварин | I група | II група | III група | IV група | V група |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Кількість ВФ | 37,33 ± 2,07 | 23,22 ± 2,42 | 38,56 ± 3,06 | 38,44 ± 0,35 | 36,89 ± 2,32 |

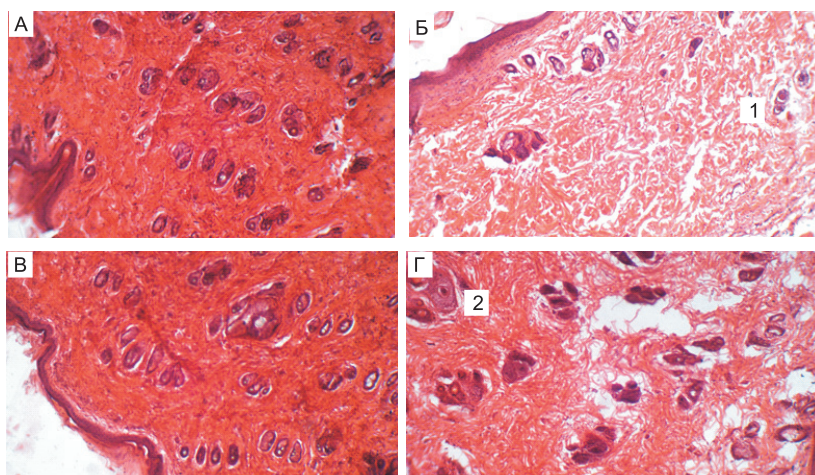


Рис. Гістофотографії тканин шкіри експериментальних тварин: А – I група (інтактні щури); Б – II група (неліковані щури); В – IV група (ліковані крем-маскою); Г – V група (ліковані гель-маскою); 1-2 – волосні фолікули. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: ок. 10, об. 20

шерсті та густини ВФ у тканинах шкіри в порівнянні з контролем.

ВИСНОВКИ

1. На моделі АА алопеції у щурів вивчена специфічна фармакологічна активність крем-маски та гель-маски з ПСЕС та настойкою софори японської. Підтверджено, що при нашкірному застосуванні м'яких ЛКЗ маса

шерсті щурів з вистриженої ділянки шкіри значно перевищувала масу шерсті нелікованих тварин.

2. Гістологічними дослідженнями з використанням методу морфометричного аналізу доведено, що показники інтенсивності відновлення росту ВФ у підслідних групах були значно вищими в порівнянні з групою контролю.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Болотная, Л. А. Болезни волос / Л. А. Болотная, Е. И. Сариян // Східноєвропейський журн. внутрішньої та сімейної медицини. – 2017. – № 1. – С. 31–38. <https://doi.org/10.15407/internalmed2017.01.031>
2. Болотная, Л. А. Лечение андрогенетической алопеции с позиций доказательной медицины / Дерматол. та венерол. – 2012. – № 4. – С. 9–16.
3. Yip, L. Role of genetics and sex steroid hormones in male androgenetic alopecia and female pattern hair loss : An update of what we now know / L. Yip // Australasian J. of Dermatol. – 2011. – Vol. 52. – P. 81–88. <https://doi.org/10.1111/j.1440-0960.2011.00745.x>
4. Plants as potential active components in treatment of androgenetic alopecia / R. Dawid-Pač, M. Urbańska, I. Dębosz, G. Nowak / Herba Polonica. – 2014. – Vol. 60 (1). – P. 49–56. <https://doi.org/10.2478/hepo-2014-0005>
5. Федоровська, М. І. Розробка технології крем-маски з рослинними субстанціями для терапії андрогенної алопеції / М. І. Федоровська, Н. П. Половко, Н. С. Леоцько // ScienceRise : Pharm. Sci. – 2017. – № 3. – С. 19–24. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2017.103544>
6. Лікувально-косметичний гель для місцевого застосування при андрогенній алопеції : пат. 119311 України. Федоровська М. І., Половко Н. П., Чупрій І. К. № 2017 01714 ; заявл. : 23.02.2017 ; опубл. : 25.09.2017. – Бюл. № 18. – 5 с.
7. Treatment of male androgenetic alopecia with topical products containing Serenoa repens extract / V. Wessagowit, C. Tangjaturonrusamee, T. Kootiratrakarn et al. // Austral. J. Dermatol. – 2016. – Vol. 57 (3). – P. 76–82. <https://doi.org/10.1111/ajd.12352>
8. Чолак, І. С. Нові біологічно активні сполуки та їх біологічна активність (огляд літератури) // Фітотерапія. Часопис. – 2010. – № 4. – С. 82–85.
9. Matias, J. R. Animal models of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous apparatus / J. R. Matias, V. Malloy, N. Orentreich // Arch. Dermatol. Res. – 1989. – Vol. 281. – P. 247–253. <https://doi.org/10.1007/bf00431058>
10. Багрий, М. М. Методики морфологічних досліджень / М. М. Багрий. – Вінниця : Нова книга, 2016. – 295 с.

REFERENCES

1. Bolotnaya, L. A., & Sarian, E. I. (2017). Hair diseases. *Shidnoevropejskij Zurnal Vnutrisnoi Ta Simejnoi Medicini*, 2017 (1), 31–38. <https://doi.org/10.15407/internalmed2017.01.031>
2. Bolotnaya, L. A. (2012). *Dermatolohiia ta venerolohiia*, 4, 9–16.
3. Yip, L., Ruffaut, N., & Sinclair, R. (2011). Role of genetics and sex steroid hormones in male androgenetic alopecia and female pattern hair loss: An update of what we now know. *Australasian Journal of Dermatology*, 52 (2), 81–88. <https://doi.org/10.1111/j.1440-0960.2011.00745.x>
4. Dawid-Pač, R., Urbańska, M., Dębosz, I., & Nowak, G. (2014). Plants as potential active components in treatment of androgenetic alopecia. *Herba Polonica*, 60 (1), 49–56. <https://doi.org/10.2478/hepo-2014-0005>
5. Fedorovska, M., Polovko, N., & Leochko, N. (2017). Development of mask-cream technology with herbal substances for the androgenic alopecia treatment. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 3 (7), 19–24. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2017.103544>
6. Fedorovska, M. I., Polovko, N. P., Chuprii, I. K. (2017). Likuvalno-kosmetichnyi hel dlia mistsevogo zastosuvania pry androhenii alopetsii. *Patent 119311*, Ukraine.
7. Wessagowit, V., Tangjaturonrusamee, C., Kootiratrakarn, T., Bunnag, T., Pimonrat, T., Muangtang, N., & Pichai, P. (2016). Treatment of male androgenetic alopecia with topical products containing Serenoa repens extract. *Australasian Journal of Dermatology*, 57 (3), 76–82. <https://doi.org/10.1111/ajd.12352>
8. Cholak, I. S. (2010). *Fitoterapiia. Chasopys*, 4, 82–85.
9. Matias, J. R., Malloy, V., & Orentreich, N. (1989). Animal models of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous apparatus. *Archives of Dermatological Research*, 281 (4), 247–253. <https://doi.org/10.1007/bf00431058>
10. Bahrii, M. M. (2016). *Metodyky morfologichnykh doslidzhen*. Vynnytsia : Nova knyha, 295.

Відомості про авторів:

Федоровська М. І., канд. фарм. наук, доцент кафедри організації та економіки фармації і технології ліків, Івано-Франківський національний медичний університет. E-mail: maryana@fedorovska.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6479-6042>

Половко Н. П., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет. E-mail: polovko.np@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1224-1739>

Антимис О. В., канд. мед. наук, доцент кафедри анатомії людини, Івано-Франківський національний медичний університет. E-mail: antimis2012@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6040-8137>

Information about authors:

Fedorovska M., Candidate of Sciences in Pharmacy, associate professor of the Organization and Economics in Pharmacy and Drug Technology Department, Ivano-Frankivsk National Medical University. E-mail: maryana@fedorovska.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6479-6042>

Polovko N., Dr. Habil. of Pharmacy, professor, head of the Pharmaceutical Technology of Drugs Department, National University of Pharmacy. E-mail: polovko.np@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1224-1739>

Antymys O., Candidate of Sciences in Medicine, associate professor of the Human Anatomy Department, Ivano-Frankivsk National Medical University. E-mail: antimis2012@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6040-8137>

Сведения об авторах:

Федоровская М. И., канд. фарм. наук, доцент кафедры организации и экономики фармации и технологии лекарств,

Ивано-Франковский национальный медицинский университет. E-mail: maryana@fedorovska.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6479-6042>

Половко Н. П., д-р фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой аптечной технологии лекарств, Национальный фармацевтический университет. E-mail: polovko.np@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1224-1739>

Антимис О. В., канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии человека, Ивано-Франковский национальный медицинский университет. E-mail: antimis2012@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6040-8137>

Надійшла до редакції 22.03.2019 р.