УДК 616.594.14-06:616.08:599.323.4 https://doi.org/10.33250/17.03.189

О. Є. Балюк, О. М. Важнича, Р. В. Луценко, В. О. Костенко, О. Є. Акімов

Зміни показників оксидативного стресу при місцевому застосуванні міноксидилу в щурів з хімічною депіляцією

Полтавський державний медичний університет

Ключові слова: депіляція, міноксидил, місцеве лікування, оксидативний стрес, антиоксидантні ферменти

Роль волосся виходить далеко за рамки його фізіологічної функції. Воно є широко відомим компонентом ідентичності та культури [1]. Здорове волосся сприймається як елемент краси, а захворювання волосся можуть суттєво вплинути на добробут і якість життя [2]. Прикладами є хворі з раком молочної залози, коли викликана хіміотерапією втрата волосся сприймається психологічно тяжче, ніж втрата молочної залози, або вогнищева алопеція, при якій трапляються самогубства [3, 4].

Відомо багато видів алопеції (андрогенна, вогнищева, рубцева, телогенове випадання волосся та ін.) [5], але в кожному випадку, крім етіотропної терапії (якщо така існує) використовують патогенетичну терапію, спрямовану на стимулювання анагену, затримку катагену та, зрештою, на запобігання прогресуванню захворювання, відновлення або підтримку належної густоти волосся [6]. Існують стратегії відновлення втраченого волосся за допомогою пероральних препаратів, наприклад, лікування андрогенної алопеції антиандрогенами чи таблетованим міноксидилом, однак вони пов'язані з високим ризиком побічних ефектів [7, 8], тому перевагу надають місцевій терапії [9]. Лікарські форми фінастериду та міноксидилу для місцевого застосування є найвизнанішими засобами для лікування алопеції [10], але також можуть бути застосовані простагландини [11], кетоконазол [12], вітаміни, мінерали та рослинні препарати [13], збагачена тромбоцитами плазма [14], фактори росту [15], мікронідлінг [16], лазерна [17] і клітинна терапія [18].

Міноксидил є 2,4-ди-аміно-6-піперидинопіримідин-3-оксидом, який виробляється в формі розчинів, піни та інших лікарських форм для місцевого застосування [19]. Близько 1–1,5 % міноксидилу всмоктується крізь шкіру та метаболізується фолікулярною сульфотрансферазою до міноксидил сульфату (активна форма). Андрогенна алопеція є найвивченішим показанням, а інші захворювання, коли призначають міноксидил, включають телогенове випадання волосся, плоский лишай, синдром пухкого анагенного волосся, монілетрикс, вогнищеву алопецію та алопецію, яка спричинена хіміотерапією [20]. Міноксидил діє кількома шляхами: як вазодилататор, протизапальний засіб, індуктор сигнального шляху Wnt/β-катенін та антиандроген, може впливати на тривалість анагенової та телогенової фаз [21]. Однак, використовуючи цей добре відомий засіб в експериментах як препарат порівняння, ми звернули увагу на те, що його вплив на оксида-

© Колектив авторів, 2023

тивний стрес при втраті волосся практично не описаний, хоча цей фактор відіграє суттєву роль у багатьох видах клінічної й експериментальної патології [22, 23].

Мета дослідження – вивчити вплив місцевого застосування міноксидилу на показники оксидативного стресу під час регенерації волосся в тварин з хімічною депіляцією.

Матеріали та методи. Експерименти виконано на 35 білих щурах-самцях масою 185–215 г. Вони були виконані з дотриманням принципів біоетики відповідно до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.) і Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU і не викликали заперечень комісії з біоетики Полтавського державного медичного університету. Перед початком експерименту щурів було адаптовано до хендлінгу протягом 14 днів. Патологію моделювали шляхом хімічної депіляції спини тварин. Ділянку шкіри площею 8 см × 4 см обробляли за допомогою комерційного депіляційного засобу на основі калію тіогліколату, як описано [24]. Його наносили на шкіру тварин тонким шаром на 10 хв. Після розчинення волосся видаляли, ретельно промивали шкіру водою кімнатної температури й висушували серветкою. Лікування розпочинали відразу після висушування депільованої ділянки шкіри. Для цього застосовували 2 % нашкірний розчин міноксидилу (Industrial Pharmaceutics Cantabria, S.A., Іспанія). Його наносили на шкіру з видаленою шерстю щоденно 1 раз на добу в дозі 30 мг/кг, що становило в середньому 0,3 мл на одного щура. Дозу вибирали, базуючись на даних літератури про ефективність відновлення волосся за топічного нанесення міноксидилу тваринам [25]. Препарат порівняння не застосовували, оскільки нашкірний розчин міноксидилу сам є стандартом за лікування втрати волосся.

Через 3 дні, 9 днів і 21 день після депіляції тварин виводили з експерименту шляхом термінальної крововтрати під загальною анестезією тіопенталом натрію (50 мг/кг) [26]. Виконували макроскопічний огляд і трихоскопію тестової ділянки та оцінювали відростання волосся за шкалою: 1 бал – нерівномірний ріст волосся на тестовій ділянці, шкіра добре помітна; 2 бали – низька густота волосся з візуалізацією шкіри; 3 бали – помірна густота волосся без видимої ділянки шкіри; 4 бали – висока густота волосся, густе хутро [27]. Із шкіри враженої ділянки готували 10 % гомогенат на дистильованій воді. У крові, одержаній з серця тварин і стабілізованій ЕДТА-калієм, і в гомогенаті шкіри визначали вміст таких продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), як малоновий діальдегід (МДА) і 4-гідроксиалкеналі методом, що ґрунтується на здатності вільного МДА специфічно реагувати з 1-метил-2феніл-індолом у суміші метанолу та ацетонітрилу з утворенням помаранчевого хромогену з максимальним світлопоглинанням при 586 нм [28]. Активність супероксиддисмутази (СОД) вимірювали за кінетикою автоокиснення адреналіну [29], активність каталази визначали молібдатним методом [30]. Зазначені методи були попередньо модифіковані та валідовані до аналізу крові та 10 % гомогенату тканин [31] Одержаний цифровий матеріал статистично обробляли шляхом однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з апостеріорним Тьюкі-тестом на комп'ютерній онлайн-платформі Statistics Kingdom. Попередньо перевіряли нормальність розподілу даних у групах, користуючись тестом Шапіро-Уілка.

Оцінюючи результати напівкількісної оцінки регенерації волосся, застосовували критерій U Манн-Уітні.

Результати та їх обговорення. Щоб судити про розвиток контрольної патології та загальний результат її лікування міноксидилом, оцінювали ступінь відростання волосся. Усі інтактні щури мали шерстний покрив, який відповідав 4 балам (5/5) (рисунок).

У тварин з контрольною патологією через 3 дні після депіляції він характеризувався 1 балом (5/5) ($p < 0,005$), через 9 днів – 2 балами (5/5) ($p < 0,005$) і через 21 день – 3 (3/5) та 4 балами (2/5) ($p < 0,1$) порівняно з інтактним контролем, тобто поступово відновлювався, але зберігав відмінності від умовної норми.

За лікування міноксидилом через 3 дні стан досліджуваної ділянки шкіри був таким самим, як у разі контрольної патології. У наступний термін спостережень міноксидил сприяв тенденції до появи шерстного покриву з оцінкою 3 бали (3/5) ($p < 0,1$). Через 21 день у тварин з експериментальною терапією переважав стан волосся в 4 бали (4/5), але різниця з контрольною патологією була не вірогідною. Такий розвиток подій може пояснюватись повільним розвитком місцевого ефекту міноксидилу [20], а також індивідуальними особливостями відновлення волосся в різних тварин [32], що посилює варіабельність результатів.

У всі терміни спостережень контрольна патологія супроводжувалась накопиченням МДА ($p < 0,001$) у шкірі ураженої ділянки порівняно з інтактними тваринами (табл. 1). Це може бути пов'язане зі змінами цитокінового профілю, викликаними депіляцією в лабораторних тварин [33], а в ранні строки після видалення волосся – зі загальним адаптаційним синдромом, який зазвичай супроводжується посиленням ПОЛ [34]. Вочевидь слід вважати, що хімічна депіляція великої ділянки тіла в тварин є значно серйознішим втручанням, ніж видалення волосся депіляційним кремом на обмеженій ділянці тіла в людини, що зумовлено міжвидовими особливостями функцій волосяного покриву та будови шкіри [35]. Адже описано, що застосування звичайних депіляційних кремів відомих брендів викликало в лабораторних мишей еритему та гістопатологічні зміни вже за експозиції 15–120 с [36].

Так само постійно відмічали зниження вмісту МДА в шкірі під впливом міноксидилу: у 1,3 разу ($p < 0,001$) через 3 дні, у 1,4 разу ($p < 0,001$) через 9 днів та в 1,2 разу ($p < 0,001$) через 21 день порівняно з депіляцією без препарату в ті самі строки.

У групі контрольної патології активність СОД у шкірі знижувалась через 3 дні після депіляції ($p < 0,05$) порівняно з інтактними щурами. Аналогічні зміни були ще більше

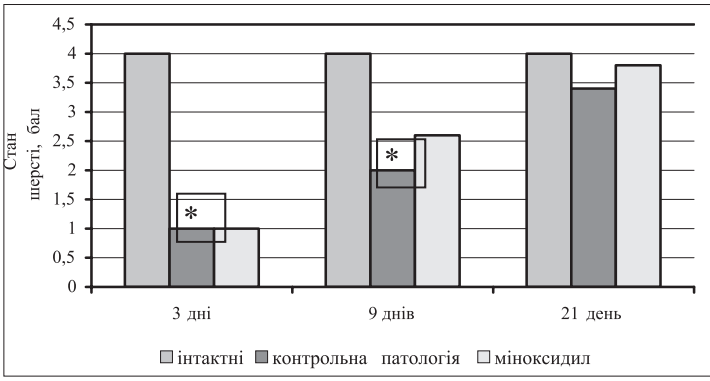

Рисунок. Відновлення шерсті після хімічної депіляції та впливу міноксидилу (напівкількісна оцінка, бал)

*Примітка. *$p < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами.*

Таблиця 1

Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у шкірі тварин за умов хімічної депіляції та впливу міноксидилу (M ± m)

Термін спостереження	Група тварин	Малоновий діальдегід, мкмоль/г	Активність супероксид-дисмутази, ум. од.	Активність каталази, мкат/г
	Інтактні (5)	14,35 ± 0,28	9,17 ± 0,20	0,075 ± 0,006
Через 3 дні	Контрольна патологія (5)	25,91 ± 1,94*	8,24 ± 0,24*	0,095 ± 0,006*
	Міноксидил (5)	20,20 ± 0,21*, #	12,30 ± 0,21*, #	0,116 ± 0,002*, #
Через 9 днів	Контрольна патологія (5)	29,36 ± 0,49*	5,75 ± 0,34*	0,062 ± 0,003*
	Міноксидил (5)	20,80 ± 0,41*, #	8,82 ± 0,55#	0,073 ± 0,004#
Через 21 день	Контрольна патологія (5)	20,58 ± 0,14*	5,64 ± 0,26*	0,080 ± 0,003
	Міноксидил (5)	16,17 ± 0,17*, #	8,09 ± 0,06*, #	0,074 ± 0,003

*Примітка. Тут і в табл. 2: *$p < 0,05$ порівняно з інтактними щурами; #$p < 0,05$ порівняно з контрольною патологією; у дужках наведено кількість тварин у групі.*

виражені через 9 днів та 21 день ($p < 0,001$) розвитку модельної патології. На ранньому етапі це могло бути результатом інгібування ферменту надлишком продукту реакції, а в пізні строки – відображати послаблення продукції супероксид-аніон радикала. Міноксидил протягом усього експерименту підвищував активність СОД у 1,5–1,4 разу ($p < 0,001$) порівняно з депіляцією без застосування препарату.

У тварин групи контрольної патології активність каталази в шкірі підвищувалась через 3 дні ($p < 0,001$), зменшувалась через 9 днів ($p < 0,002$) і не змінювалася через 21 день порівняно з групою інтактного контролю. Цей фермент працює в парі з СОД, і коливання його активності вочевидь пов'язані зі змінами продукції пероксиду водню в супероксиддисмутазній реакції, яка посилена на початку та зменшується в наступні строки експерименту. На цьому фоні лікування міноксидилом ще більше (у 1,2 разу) підвищувало активність каталази через 3 дні від початку спостережень ($p < 0,001$), нормалізувало її через 9 днів ($p < 0,005$) і не змінювало через 21 день порівняно з контрольною патологією.

У крові тварин з хімічною депіляцією також реєструвалися зміни вмісту МДА: він був підвищений через 3 дні ($p < 0,001$) та 21 день ($p < 0,001$) і знаходився на рівні інтактного контролю через 9 днів після видалення волосся. Міноксидил у всі терміни спостереження призводив до зниження цих показників: через 3 дні – у 1,2 разу ($p < 0,001$), через 9 днів – у 1,2 разу ($p < 0,001$) та через 21 день – у 1,1 разу ($p < 0,001$) порівняно з контрольною патологією.

Активність СОД у крові щурів із хімічною депіляцією вірогідно знижувалась ($p < 0,005$), як і в шкірі тварин максимально через 21 день, коли активність ферменту падала в 3,9 разу ($p < 0,001$) порівняно з інтактним контролем. Застосування міноксидилу підвищувало активність ферменту через 3 дні в 2,8 разу ($p < 0,001$), через 9 днів – у 2,9 разу ($p < 0,001$) та через 21 день – у 4 рази

Таблиця 2

Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у крові тварин за умов хімічної депіляції та впливу міноксидилу (M ± m)

Термін спостереження	Група тварин	Малоновий діальдегід, мкмоль/г	Активність супероксид-дисмутази, ум. од.	Активність каталази, мкат/г
	Інтактні (5)	30,47 ± 1,41	6,78 ± 0,52	3,822 ± 0,194
Через 3 дні	Контрольна патологія (5)	35,35 ± 1,52*	4,91 ± 0,79*	3,855 ± 0,098
	Міноксидил (5)	28,59 ± 0,96#	13,76 ± 0,87*, #	4,121 ± 0,026*, #
Через 9 днів	Контрольна патологія (5)	31,55 ± 1,38	4,86 ± 0,73*	3,728 ± 0,087
	Міноксидил (5)	25,70 ± 0,61*, #	13,96 ± 0,58*, #	4,564 ± 0,264*, #
Через 21 день	Контрольна патологія (5)	37,45 ± 0,60*	1,72 ± 0,33*	1,278 ± 0,070*
	Міноксидил (5)	32,95 ± 2,03*, #	6,87 ± 0,77*, #	2,764 ± 0,124*, #

($p < 0,001$) порівняно з контрольною патологією, що за своїм спрямуванням було подібне процесам у шкірі депільованої ділянки.

Активність каталази крові в групі контрольної патології не змінювалась через 3 і 9 днів експерименту та знижувалась через 21 день ($p < 0,001$). Наявність змін активності даного ферменту в крові, як і описані вище щодо активності СОД і накопичення продуктів ПОЛ у крові, вочевидь свідчать, що хімічна депіляція в білих щурів і відновний період після неї супроводжуються не лише локальним порушенням оксидантно-антиоксидантного балансу, а й посиленням оксидативного стресу на рівні всього організму. Під впливом міноксидилу каталазна активність крові зростала в 1,1 разу ($p < 0,02$), 1,2 разу ($p < 0,001$) та 2,2 разу ($p < 0,001$) проти показників групи контрольної патології у відповідні терміни спостережень.

Як показують одержані результати, міноксидил (30 мг/кг) за умов місцевого застосування поліпшував регенерацію волосся в щурів після хімічної депіляції, що узгоджується з даними літератури [13]. Водночас препарат виявляв антиоксидатну дію як у шкірі досліджуваної ділянки, так і в крові, що може пояснюватись проникненням його частини до системного кровообігу [21] та (або) бути наслідком місцевої терапевтичної дії.

Антиоксидантний компонент ефекту препарату стосувався як індуцибельних антиоксидантних ферментів СОД і каталази, так і накопичення продуктів ПОЛ, основну масу яких становить МДА. Ця властивість препарату потребує подальшого вивчення, але можна припустити, що вплив на зазначені біомаркери оксидативного стресу пов'язаний зі здатністю міноксидилу зв'язувати залізо в клітині [37]. Вважають, що при зв'язуванні заліза в реакційноздатній формі Фентона виникає внутрішньоклітинне утворення гідроксильного радикала, але гідроксил негайно захоплюється міноксидилом для генерації нітроксильного радикала. Водночас цей нітроксильний радикал здатний відновлюватися глутатіоном для перетворення міноксидилу, і такий процес може призвести до виснаження

пулу відновленого глутатіону з одночасним споживанням НАДФН/НАДН [37]. Міноксидил також може втручатись у метаболізм аскорбінової кислоти, перериваючи зв'язування аскорбату зі залізом [38].

Оскільки міноксидил інтерферує з обміном глутатіону й аскорбату, а також здатний генерувати активні форми кисню в культурі клітин [37–39], то не виключено, що його антиоксидантний ефект *in vivo* не такий однозначний, як здається на перший погляд, і поліпшення одних ланок антиоксидантного захисту може поєднуватись з пригніченням інших. Однак, спираючись на відомості щодо ролі оксидативного стресу в інгібуванні росту волосся [40], виявлене пригнічення ПОЛ, активацію СОД і каталази під впливом міноксидилу слід вважати позитивним моментом у механізмі його лікувальної дії при втраті волосся. Виявлені особливості слід враховувати, якщо йдеться про відновлення волосся в геронтологічних хворих або в пацієнтів з хіміо- чи променевою терапією онкологічних захворювань, коли посилений оксидативний стрес [41].

Висновки

1. Хімічна депіляція в білих щурів характеризується спонтанним відновленням волосяного покриву протягом 21 доби, що супроводжується підвищеним вмістом МДА, зниженням активності СОД і коливаннями активності каталази в шкірі враженої ділянки та крові.
2. Міноксидил (30 мг/кг) за щоденного місцевого застосування в тварин з хімічною депіляцією поліпшує відновлення шерстного покриву за візуальними ознаками через 9 днів, призводить до модифікації зниження вмісту МДА та підвищення активності СОД у шкірі в усі строки спостережень, а також до активності каталази через 3 і 9 днів лікування.
3. Експериментальна місцева терапія хімічної депіляції міноксидилом викликає зниження вмісту продуктів ПОЛ, підвищення активності СОД і каталази в крові тварин.
4. Виявлений антиоксидантний ефект розширює уявлення про фармакодинаміку міноксидилу та має враховуватися за його клінічного застосування на тлі оксидативного стресу.

1. *Helfert S., Waschburger P*. The face of appearance-related social pressure: gender, age and body mass variations in peer and parental pressure during adolescence. *Child Adolesc. Psychiatry Ment. Health.* 2013. V. 7. P. 16. URL: https://capmh.biomedcentral.com/articles/10.1186/1753-2000-7-16.
2. *Davis D. S., Callender V. D*. Review of quality of life studies in women with alopecia. *Int. J. Womens Dermatol.* 2018. V. 4 (1). P. 18–22. https://doi.org/10.1016/j.ijwd.2017.11.007.
3. *Lemieux J., Maunsell E., Provencher L*. Chemotherapy-induced alopecia and effects on quality of life among women with breast cancer: a literature review. *Psychooncology*. 2008. V. 17 (4). P. 317–328. https://doi.org/10.1002/pon.1245.
4. *Sinclair R. D*. Alopecia areata and suicide of children. *Med. J. Aust.* 2014. V. 200 (3). P. 145. https://doi.org/10.5694/mja13.10895.
5. *Coleman E*. Types and treatment of hair loss in men and women. *Plast. Surg. Nurs.* 2020. V. 40 (1). P. 6–19. https://doi.org/10.1097/PSN.0000000000000285.
6. Advances in hair growth. D. Wall, N. Meah, N. Fagan et al. *Fac. Rev.* 2022. V. 11. P. 1. https://doi.org/10.12703/r/11-1.
7. Sexual dysfunction in men taking systemic dermatologic medication: a systematic review. G. A. Zakhem, J. E. Goldberg, C. C. Motosko et al. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2019. V. 81 (1). P. 163–172. https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.03.043.
8. Efficacy and safety of oral minoxidil in female androgenetic alopecia. M. Vastarella, M. Cantelli, A. Patrì et al. *Dermatol. Ther.* 2020. V. 33 (6). e14234. https://doi.org/10.1111/dth.14234.
9. A review of the treatment of male pattern hair loss. K. York, N. Meah, B. Bhoyrul, R. Sinclair. *Expert Opin. Pharmacother.* 2020. V. 21 (5). V. 603–612. https://doi.org/10.1080/14656566.2020.1721463.

10. Treatment options for androgenetic alopecia: Efficacy, side effects, compliance, financial considerations, and ethics. M. S. Nestor, G. Ablon, A. Gade et al. *J. Cosmet. Dermatol.* 2021. V. 20 (12). P. 3759–3781. https://doi.org/10.1111/jocd.14537.
11. A randomized double – blind placebo-controlled pilot study to assess the efficacy of a 24-week topical treatment by latanoprost 0.1 % on hair growth and pigmentation in healthy volunteers with androgenetic alopecia. U. Blume-Peytavi, S. Lönnfors, K. Hillmann, B. N. Garcia. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2012. V. 66 (5). P. 794–800. https://doi.org/10.1016/j.jaad.2011.05.026.
12. Topical ketoconazole for the treatment of androgenetic alopecia: a systematic review. J. R. Fields, P. M. Vonu, R. L. Monir, J. J. Schoch. *Dermatol. Ther.* 2020. V. 33 (1). P. e13202. https://doi.org/10.1111/dth.13202.
13. *Hosking A.-M., Juhasz M., Atanaskova M. N.* Complementary and alternative treatments for alopecia: a comprehensive review. *Skin Appendage Disord.* 2019. V. 5 (2). P. 72–89. https://doi.org/10.1159/000492035.
14. *Girijala R. L., Riahi R. R., Cohen P. R*. Platelet-rich plasma for androgenic alopecia treatment: a comprehensive review. *Dermatol. Online J.* 2018. V. 24 (7). P. 13030/qt8s43026c. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30261560.
15. Effects of topical application of growth factors followed by microneedle therapy in women with female pattern hair loss: a pilot study. Y. B. Lee, Y. S. Eun, J. H. Lee et al. *J. Dermatol.* 2013. V. 40 (1). P. 81–83. https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2012.01680.x.
16. Microneedling in androgenetic alopecia; comparing two different depths of microneedles. G. Faghihi, S. Nabavinejad, F. Mokhtari et al. *J. Cosmet. Dermatol.* 2021. V. 20 (4). P. 1241–1247. https://doi.org/10.1111/jocd.13714.
17. Low-level laser (light) therapy (LLLT) for treatment of hair loss. P. Avci, G. K. Gupta, J. Clark et al. *Lasers Surg. Med.* 2014. V. 46 (2). P. 144–151. https://doi.org/10.1002/lsm.22170.
18. Mesenchymal stem/stromal cell-derived exosomes for immunomodulatory therapeutics and skin regeneration. D. H. Ha, H.-K. Kim, J. Lee et al. *Cells*. 2020. V. 9 (5). P. 1157. https://doi.org/10.3390/cells9051157.
19. *Ghonemy S., Alarawi A., Bessar H*. Efficacy and safety of a new 10 % topical minoxidil versus 5 % topical minoxidil and placebo in the treatment of male androgenetic alopecia: a trichoscopic evaluation. *J. Dermatolog. Treat.* 2021. V. 32(2). P. 236-241. https://doi.org/10.1080/09546634.2019.1654070.
20. *Suchonwanit P., Thammarucha S., Leerunyakul K.* Minoxidil and its use in hair disorders: a review. *Drug Des. Devel. Ther.* 2019. V. 13. P. 2777–2786. https://doi.org/10.2147/DDDT.S214907.
21. Minoxidil: a comprehensive review. A. K. Gupta, M. Talukder, M. Venkataraman , M. A. Bamimore. *J. Dermatolog. Treat.* 2022. V. 33 (4). P. 1896–1906. https://doi.org/10.1080/09546634.2021.194552.
22. Effect of quercetin on parameters of central hemodynamics and myocardial ischemia in patients with stable coronary heart disease. N. I. Chekalina, S. V. Shut , T. A. Trybrat et al. *Wiad Lek*. 2017. V. 70 (4). P. 707–711. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29064791/.
23. *Yelins'ka A. M., Akimov O. Y., Kostenko V. O.* Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *Ukr. Biochem. J.* 2019. V. 91 (1). P. 80–85. https://doi.org/10.15407/ubj91.01.080.
24. Comparison of two hair removal methods in Sprague–Dawley rats (*Rattus norvegicus*). N. L. Rowley, E. Ramos-Rivera, S. Raiciulescu et al. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2021. V. 60 (2). P. 213–220. https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-20-000108.
25. Topical products for human hair regeneration: a comparative study on an animal model. M. S. Orasan, P. Bolfa, A. Coneac et al. *Ann. Dermatol.* 2016. V. 28 (1). P. 65–73. https://doi.org/10.5021/ad.2016.28.1.65.
26. *Parasuraman S., Raveendran R., Kesavan R*. Blood sample collection in small laboratory animals. *J. Pharmacol. Pharmacother.* 2010. V. 1 (2). P. 87–93. https://doi.org/10.4103/0976-500X.72350.
27. Minoxidil and neoptide topical application reinforced by low-level laser therapy on an animal model of alopecia. M. S. Orasan, A. Coneac, C. M. Mihu et al. *Studia Chemia*. 2015. V. 60 (2). P. 295–308. URL: https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA425460481&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=12247154&p=AONE&sw=w&userGroupName=anon%7Ed336d291&aty=open+web+entry.
28. Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals, analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. D. Gérard-Monnier, I. Erdelmeier, K. Régnard et al. *Chem. Res. Toxicol.* 1998. V. 11 (10). P. 76–83. https://doi.org/10.1021/tx970180z.
29. *Misra H. P., Fridovich I.* The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem*. 1972. V. 247 (10). P. 3170–3175. https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)45228-9/pdf.
30. *Góth L. A* simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin. Chim. Acta*. 1991. V. 196 (2–3). P. 143–151. https://doi.org/10.1016/0009-8981(91)90067-m.
31. *Акімов О. Є., Костенко В. О*. Оксидативно-нітрозативний стрес та методи його дослідження: навч.-метод. посіб. Львів : Магнолія 2006, 2021. 151 с.

32. *Orăsan M. S., Coneac A.* Evaluation of animal models suitable for hair research and regeneration [Internet]. In: Experimental animal models of human diseases – an effective therapeutic strategy. InTech; 2018. http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69698.
33. Depilatory creams increase the number of hair follicles, and dermal fibroblasts expressing interleukin-6, tumor necrosis factor-α, and tumor necrosis factor-β in mouse skin. Pi-Fen Tsai, Fen-Pi Chou, Ting-Shuan Yu et al. *Korean. J. Physiol. Pharmacol.* 2021. V. 25 (6). P. 497–506. https://doi.org/10.4196/kjpp.2021.25.6.497.
34. *Девяткина Т. А., Важничая Е. М., Луценко Р. В.* Особенности процессов перекисного окисления липидов в различных тканях при остром стрессе и его коррекции пирацетамом и церебролизином. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2000. Т. 63 (4). С. 38–41.
35. Hair loss and regeneration performed on animal models. M. S. Orasan, I. Roman, A. Coneac et al. *Clujul. Med.* 2016. V. 89 (3). P. 327–334. https://doi.org/10.15386/cjmed-583.
36. Effects of depilatory cream formulation and contact time on mouse skin. M. N. Reichert, N. J. Koewler, A. M. Hargis et al. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2023. V. 62 (2). V. 153–162. https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-22-000065.
37. Effects of minoxidil on cell proliferation and intracellular glutathione status of murine (L929) fibroblasts. L. Y. Chung, A. M. Andrews, R. J. Schmidt, T. D. Turner. In Harding K. G., Leaper D. L., Turner T. D. (eds.). Proceedings of the 1st European Conference on Advances in Wound Management, Cardiff, 4–6 September 1991. Macmillan Magazines, 1992. P. 122–128.
38. Minoxidil induction of VEGF is mediated by inhibition of HIF-prolyl hydroxylase. S. Yum, S. Jeong, D. Kim et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 19 (1). P. 53. https://doi.org/10.3390/ijms19010053.
39. Kang H. G , Kim J. W. Effect of minoxidil on trabecular outflow via the paracellular pathway. *Korean. J. Ophthalmol.* 2020. V. 34 (2). P. 97–105. https://doi.org/10.3341/kjo.2019.0124.
40. Oxidative damage control in a human (mini-) organ: Nrf2 activation protects against oxidative stress-induced hair growth inhibition. I. S. Haslam, L. Jadkauskaite, I. L. Szabó et al. *J. Invest. Dermatol*. 2017. V. 137 (2). P. 295–304. https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.08.035.
41. Oxidative stress, aging, and diseases. I. Liguori, G. Russo, F. Curcio et al. *Clin. Interv. Aging.* 2018. V. 13. P. 757–772. https://doi.org/10.2147/CIA.S158513.
42. Oxidative stress response induced by chemotherapy in leukemia treatment. J. Zhang, W. Lei, X. Chen et al. *Mol. Clin. Oncol.* 2018. V. 8 (3). V. 391–399. https://doi.org/10.3892/mco.2018.1549.
43. Radiation-induced normal tissue damage: oxidative stress and epigenetic mechanisms. J. Wei, B. Wang, H. Wang et al. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2019. V. 2019. P. 3010342. https://doi.org/10.1155/2019/3010342.

Конфлікт інтересів відсутній.

О. Є. Балюк, О. М. Важнича, Р. В. Луценко, В. О. Костенко, О. Є. Акімов
Зміни показників оксидативного стресу при місцевому застосуванні міноксидилу в щурів з хімічною депіляцією

Захворювання або втрата волосся можуть суттєво впливати на добробут і якість життя. Відомо багато видів алопеції, але в кожному випадку патогенетична терапія спрямована на стимулювання анагену, затримку катагену, відновлення або підтримку належної густоти волосся. Міноксидил для місцевого застосування є одним з найвизнаніших засобів лікування алопеції, але його вплив на рівень оксидативного стресу під час терапії описано недостатньо.

Мета дослідження – вивчити вплив місцевого застосування міноксидилу на показники оксидативного стресу під час регенерації волосся в тварин з хімічною депіляцією.

Експерименти були виконані на 35 білих щурах-самцях. Патологію моделювали шляхом хімічної депіляції шкіри спини щурів площею 8 см × 4 см калію тіогліколатом. Лікування розпочинали відразу після депіляції, наносячи на шкіру депільованої ділянки 2 % розчин міноксидилу 1 раз на добу в дозі 30 мг/кг. Через 3 дні, 9 днів та 21 день після депіляції тварин виводили з експерименту шляхом термінальної крововтрати. Відростання волосся оцінювали в балах. У крові та гомогенаті шкіри визначали малоновий діальдегід (МДА) і 4-гідроксиалкеналі як продукти пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), активність супероксиддисмутази (СОД) і каталази. Одержаний цифровий матеріал статистично обробляли шляхом однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з апостеріорним Тьюкі-тестом або за критерієм U Манна-Уітні.

При лікуванні міноксидилом через 3 дні стан шерсті досліджуваної ділянки був таким самим, як при контрольній патології. Через 9 днів препарат сприяв тенденції до появи шерстного покриву з оцінкою 3 бали. Через 21 день у групі з експериментальною терапією переважав розвиток волосся в 4 бали (повна нормалізація), але різниця з контрольною патологією була не вірогідною. Відновлення після хімічної епіляції без лікування супроводжувалось накопиченням МДА, зниженням активності СОД та коливаннями активності каталази в шкірі ураженої ділянки та крові. Під дією міноксидилу в усі строки спостережень у шкірі відмічалось зниження вмісту МДА, підвищення активності СОД та зміни активності каталази, яка додатково зростала через 3 дні, нормалізувалась через 9 днів і була

на рівні контрольної патології через 21 день. Поряд з цим, препарат призводив до зменшення накопичення продуктів ПОЛ та суттєвого збільшення активності СОД у крові порівняно з контрольною патологією, що за спрямуванням було подібне процесам у шкірі. Під впливом міноксидилу каталазна активність крові зростала в усі терміни спостережень.

Отже, міноксидил за умов щоденного місцевого лікування втрати волосся демонстрував антиоксидантну дію в шкірі ураженої ділянки та крові. Виявлена особливість фармакодинаміки препарату може бути корисна за його клінічного застосування на тлі оксидативного стресу, викликаного старінням, хіміо- або радіотерапією.

Ключові слова: депіляція, міноксидил, місцеве лікування, оксидативний стрес, антиоксидантні ферменти

Baliuk O. Ye., Vazhnichaya E. M., Lutsenko R. V., Kostenko V. O., Akimov O. Ye.

Changes in oxidative stress parameters at local application of minoxidil in rats with chemical depilation

Disease or loss of hair can significantly affect well-being and quality of life. Many types of alopecia are known, but in every case pathogenetic therapy is aimed at anagen stimulating, catagen delaying, restoring or maintaining of proper hair density. Topical minoxidil is one of the most recognized agents for the treatment of alopecia, but its effect on the level of oxidative stress during treatment is poorly described.

The aim of the study is to evaluate the effect of local application of minoxidil on oxidative stress parameters during the hair regeneration in animals with chemical depilation.

Experiments were performed on 35 albino male rats. The pathology was modeled by chemical depilation of the rats back skin with an area of 8 cm × 4 cm by potassium thioglycolate. Treatment began immediately after depilation with applying of 2% minoxidil solution on the skin once a day at a dose of 30 mg/kg. The animals were removed from the experiment by terminal blood loss 3 days, 9 days and 21 days after depilation. The hair re-growth was evaluated in points. In the blood and in the skin homogenate, malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals (MDA) as lipid peroxidation (LPO) products, superoxide dismutase (SOD) and catalase activity were determined. The resulting digital material was statistically processed by one-way analysis of variance ANOVA with a posteriori Tukey test or the Mann Whitney U test.

After 3 days of treatment with minoxidil, the condition of the hair on the test area was the same as with the control pathology. After 9 days, the drug contributed to the tendency to the appearance of a woolly coat with an assessment of 3 points. After 21 days, in the group with experimental therapy, hair development of 4 points (complete normalization) prevailed in the animals, but the difference with the control pathology was not probable. Without treatment, the recovery after chemical depilation was accompanied by the accumulation of MDA, a decrease in the activity of SOD and fluctuations in the activity of catalase in the skin of the affected area and in the blood. Under the influence of minoxidil, a decrease in the content of MDA in the skin, an increase in the activity of SOD during all periods of observation and changes in the activity of catalase, which additionally increased after 3 days, normalized after 9 days, and was at the level of control pathology after 21 days, were noted in the skin. Along with this, the drug reduced the accumulation of LPO products and significantly increased the activity of SOD in the blood compared to the control pathology, which in its direction was similar to the processes in the skin. Under the influence of minoxidil, the blood catalase activity increased during all periods of the observation.

Therefore, minoxidil with a daily local treatment of hear loss demonstrated an antioxidant effect in the skin of the affected area and in the blood. The identified feature of the drug's pharmacodynamics can be useful in its clinical use against the background of oxidative stress caused by aging, chemio- or radiotherapy.

Key words: depilation, minoxidil, topical treatment, oxidative stress, antioxidant enzymes

Статтю підготовлено в межах теми ініціативної науково-дослідної роботи кафедри фармакології, клінічної фармакології та фармації Полтавського державного медичного університету «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів для розробки та оптимізації показань до їх застосування в медичній практиці» (№ державної реєстрації 0120U103921),

ORCID ID авторів:
Балюк О. Є. (ORCID ID 0000 0003 3260 6317);
Важнича О. М. (ORCID ID 0000 0003 2515 7963);
Луценко Р. В. (ORCID ID 0000 0003 0277 0458);
Костенко В. О. (ORCID ID 0000-0002-3965-1826);
Акімов О. Є. (ORCID ID 0000-0002-4958-3695).

Надійшла: 10 квітня 2023 р.

Прийнята до друку: 27 червня 2023 р.

Контактна особа: Балюк Олена Євгеніївна, аспірантка, кафедра фармакології, клінічної фармакології та фармації, Полтавський державний медичний університет, вул. Шевченка, буд. 23, м. Полтава, 36011. Тел.: + 38 0 95 195 14 39. Електронна пошта: metonimiya@ukr.net