



ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ»
"EXPERIMENTAL AND CLINICAL PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY"
Науково-практичний журнал/Scientific-practical journal

Експериментальна медицина / Experimental medicine
ЕСРВ 2022, 3/4(95): 37–43.

УДК 615.26:615.451.3.065:616.15-07]-092.9

Гематологічний та імунний гомеостаз експериментальних тварин під впливом лосьйону, що містить 5% міноксидилу

Н.С. ЧЕМОДУРОВА

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
Львів, Україна*

E-mail: tricocentr@gmail.com

Резюме. *Мета роботи.* Дослідити в експериментальних умовах вплив лосьйону, що містить 5% міноксидилу, на клітинну та гуморальну ланки імунітету лабораторних тварин.

Методи. Експериментальні дослідження проводилися на статевозрілих мурчаків світлої масті масою 300–350 г. Сенсibiliзацію мурчаків проводили комплексно за методом О.Г. Алексеевої, А.І. Петкевич, визначали зміни гематологічних показників периферичної крові контрольних і дослідних тварин, вираховували гематологічні індекси, оцінювали клітинну та гуморальну ланки імунітету організму.

Результати. Після завершення експерименту в дослідних тварин виявлено достовірні зміни в лейкоцитарній формулі крові порівняно з контрольною групою: збільшення еозинофілів на 56,2% та моноцитів на 79%, зменшення лімфоцитів на 5,1%. Аналіз гематологічних індексів показав зниження в сенсibiliзованих тварин: ІСЛМ на 88,1%, що вказує на порушення афекторної ланки імунної відповіді; ІСНЕ на 57,1% та ІСЛЕ на 64,2%, що вказує на зміщення міжклітинної рівноваги в бік клітин, що беруть участь у реакціях гіперчутливості негайного типу й активування механізмів імунно-алергічних реакцій. Оцінка клітинного імунітету показала у дослідній групі: достовірне зростання пулу СД3 на 27,5% за рахунок збільшення СД4 на 31,8%, що підкреслює перевагу хелперних механізмів імунної відповіді, очевидно, адаптивного характеру; підвищення СД 22 у відсотках на 54% та в абсолютних величинах на 82,8%; підвищення ФІ на 74% та ФП на 35,5%; ЦІК на 43,4%, що вказує на стимуляцію імунної відповіді на надходження антигенів.

Висновки. Лосьйон із вмістом 5% міноксидилу при комплексній сенсibiliзації мурчаків викликав достовірні зміни показників периферичної крові, зрушення імунологічного гомеостазу. Спостерігалися зрушення клітинної ланки імунітету, вплив на стан фагоцитарної ланки імунітету та порушення гуморальної відповіді адаптивного імунітету.

Ключові слова: міноксидил, гематологічний та імунний гомеостаз, клітинний та гуморальний імунітет, алергічні реакції.

Hematological and immune homeostasis of experimental animals under the influence of lotion, containing 5% minoxidil

N.Ye. CHEMODUROVA

Danylo Halytsky Lviv National Medical University,
Lviv, Ukraine

E-mail: tricocentr@gmail.com

Summary. Purpose of the study. To investigate in experimental conditions the effect of lotion containing 5% minoxidil on the cellular and humoral immunity of laboratory animals.

Methods. Experimental studies were conducted on mature guinea pigs of light color weighing 300–350 g. Sensitization of guinea pigs was carried out comprehensively according to the method of O.H. Alieksieieva, A.I. Petkevych, changes in hematological parameters of peripheral blood of control and experimental animals were determined, hematological indices were calculated, and cellular and humoral links of the body's immunity were evaluated.

Results. At the end of the experiment, the experimental animals showed significant changes in the leukocyte blood count compared to the control group: an increase in eosinophils by 56.2% and monocytes by 79%, and a decrease in lymphocytes by 5.1%. The analysis of hematological indices showed a decrease in the sensitized animals: the ratio of lymphocytes to monocytes by 88.1%, indicating a violation of the effector link of the immune response; neutrophil to eosinophil ratio by 57.1% and lymphocyte to eosinophil ratio by 64.2%, indicating a shift in intercellular balance towards cells involved in immediate hypersensitivity reactions and activation of immune-allergic reactions. The assessment of cellular immunity showed a significant increase in the CD3 pool by 27.5% due to an increase in CD4 by 31.8%, which emphasizes the superiority of helper mechanisms of the immune response, obviously of an adaptive nature, an increase in CD22 in percentage terms by 54% and in absolute terms by 82.8%, an increase in the experimental group: phagocytic index by 74% and phagocytic indicator by 35.5%, circulating immune complexes by 43.4%, indicating a stimulation of the immune response to antigenic intake.

Reports. The lotion containing 5% minoxidil in the complex sensitization of guinea pigs caused significant changes in peripheral blood parameters and shifts in immunological homeostasis. There were changes in the cellular part of the immune system, an impact on the phagocytic part of the immune system and a violation of the humoral response of adaptive immunity.

Key words: minoxidil, hematological and immune homeostasis, cellular and humoral immunity, allergic reactions.

Вступ. Для корекції різних форм алопецій застосовують лосьйони з міноксидилом – як лікарські засоби із вмістом від 2% до 5% активної діючої речовини, так і косметичні засоби – від 2% до 15% активної діючої речовини.

Більшість клінічних досліджень щодо небезпеки розвитку побічних реакцій при застосуванні топічних лосьйонів із міноксидилом були отримані на етапі його впровадження в дерматологічну практику. За численними даними, найбільш поширеними побічними ефектами були такі, як почервоніння, подразнення й контактний дерматит шкіри голови, що викликає свербіж, лущення, алергійний контактний дерматит [1–4]. У наступні роки було отримано підтвердження щодо алергенного потенціалу лосьйонів [5–7]. Контактний дерматит, спровокований лосьйонами з міноксидилом, може виглядати дуже схожим на псоріаз шкіри голови, стійка алергія на міноксидил може проявлятися як шкірна лімфоїдна гіперплазія [8]. Результатом

алергічної реакції на лосьйон із вмістом 5% міноксиду може бути розвиток набряку обличчя [9].

Даних про вплив лосьйону, що містить 5% міноксиду, на імунну систему в науковій літературі не знайдено. Враховуючи численні дані про алергічні побічні реакції від застосування лосьйонів, що містять міноксид, доцільність експериментальних досліджень полягає у встановленні ступеня алергоактивності, вивченні клітинних механізмів імунних порушень, фагоцитарної активності, в оцінці гуморальної ланки за співвідношенням імуноглобулінів.

Матеріали та методи дослідження. Об'єкт досліджень – вітчизняний косметичний лосьйон із вмістом 5% міноксиду (6-(1-Піперидиніл)-2,4-піримідиндіамін-3-оксид). Фармакологічна група – вазодилататори, дерматотропні засоби. Відповідно до інструкції, жінкам та чоловікам рекомендовано одно- або двократно впродовж доби нанесення лосьйону в місцях облісіння волосистої частини шкіри голови.

Експериментальна робота проведена на мурчаках світлої масті масою 300–350 г, яких утримували на стандартному раціоні з необмеженим доступом до питної води. Під час проведення досліджень дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» [10] та «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» [11]. Методом «сліпого ранжування» тварини були поділені на дві групи: дослідну та контрольну, які включали по 6 особин кожна.

Сенсибілізацію мурчаків проводили комплексно за методом О.Г. Алексєєвої, А.І. Петкевич [12]. Лосьйон, що містить 5% міноксиду, в об'ємі 0,02 мл вводили однократно внутрішньошкірно в зовнішню поверхню вуха піддослідних мурчаків. Через 10 днів додатково проводили епікутанно аплікації лосьйону (1 мл) на попередньо депільовані ділянки (2×2 см) бічної поверхні тулуба тварин по 5 разів на тиждень упродовж 4 тижнів (усього 20 аплікацій).

Після завершення експозиції визначали зміни гематологічних показників периферичної крові контрольних і дослідних тварин. Для оцінки загальної характеристики та напрямку клітинних реакцій вираховували гематологічні індекси: індекс співвідношення нейтрофілів та лімфоцитів (ІСНЛ), індекс співвідношення нейтрофілів та моноцитів (ІСНМ), індекс співвідношення нейтрофілів та еозинофілів (ІСНЕ), індекс співвідношення моноцитів та еозинофілів (ІСМЕ), індекс співвідношення лімфоцитів та моноцитів (ІСЛМ), індекс співвідношення лімфоцитів та еозинофілів (ІСЛЕ) [13].

Оцінку клітинної ланки імунітету організму проводили за показниками відносного та абсолютного вмісту в периферичній крові лімфоцитарних фракцій: СД3, СД4, СД8, СД16, СД22 за допомогою діагностиків еритроцитарних з адсорбованими на їх поверхні відповідними анти-СД-моноклональними антитілами виробництва ТВО НВЛ «Гранум» (Україна, м. Харків). Підраховували імунорегуляторний індекс.

Вміст імуноглобулінів IgA, IgM, IgG у сироватці крові визначали методом радіальної імунодифузії глобулінів в агарі Діфко [13]; циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – методом, який ґрунтується на преципітації високомолекулярних імунних комплексів крові високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ) із подальшим вимірюванням результатів спектрофотометричним методом [14].

Неспецифічну резистентність організму оцінювали за фагоцитарною ланкою імунітету (фагоцитарного індексу (ФІ), фагоцитарного показника (ФП)) [15].

Отримані дані аналізували з використанням пакету програми Microsoft Excel. Перевірку відповідності отриманих даних нормальному закону роз-

поділу проводили за критерієм Колмогорова-Смірнова. Достовірність отриманих відмінностей порівнюваних величин оцінювали з використанням *t*-критерію Стьюдента. За достовірні приймали зміни з рівнем значущості більш ніж 95% ($p < 0,05$) [16].

Результати дослідження та їх обговорення. У сенсibilізованих мурчаків в умовах експерименту лосьйон із вмістом 5% міноксиду викликав зміни у загальному вмісті лейкоцитів у крові порівняно з контрольною групою. Відмічене порушення динамічної рівноваги між лейкоцитарними фракціями клітин у бік збільшення відсоткового вмісту еозинофілів на 56,2% та моноцитів на 79%. Це вказує на формування алергонебезпечних реакцій з участю еозинофільних гранулоцитів, які сприяють активуванню Ig E-залежних механізмів гіперчутливості негайного типу. Необхідно зазначити, що еозинофільний гранулоцит відіграє суттєву роль у патофізіологічній фазі гіперчутливості. Еозинофільний катіонний протеїн (eosinophil cationic protein – ЕСР) індукує виділення гістаміну з тучних клітин та базофілів, бере активну участь у реалізації запальних реакцій; інгібує проліферацію Т-лімфоцитів, забезпечує регуляцію клітинно-опосередкованих імунних реакцій. У сучасній літературі він розглядається як активний учасник розвитку алергенних захворювань та важливий елемент у підтриманні імунологічного гомеостазу [17]

Головну роль в імунних реакціях відіграють лімфоцити, які розпізнають антигени. В умовах нашого експерименту у дослідній групі популяція лімфоцитарних клітин зменшувалася на 5,1%, що може свідчити про порушення клітинної ланки імунітету.

Решта показників лейкоцитарної формули піддослідних тварин не мали достовірних відмінностей між експериментальною і контрольною групою (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив лосьйону, що містить 5% міноксиду, на загальну формулу крові мурчаків

| Показники | Контрольні тварини | Сенсibilізовані тварини |
|----------------|--------------------|-------------------------|
| Лейкоцити, Г/л | 11,45±0,47 | 13,51±0,55* |
| Базофіли, % | 0,17±0,1 | 0,33±0,2 |
| Еозинофіли, % | 2,67±0,33 | 4,17±0,48* |
| Нейтрофіли, % | 23±1,26 | 22,83±1,47 |
| Моноцити, % | 2,33±0,21 | 4,17±0,6* |
| Лімфоцити, % | 72±1,26 | 68,5±1,41 |

Примітка: * – вірогідність відмінностей від показників контрольної групи понад 95% ($p < 0,05$).

Аналіз гематологічних індексів показав зниження ІСЛМ, який достовірно зменшився на 88,1% у сенсibilізованих тварин порівняно з контролем за рахунок зменшення кількості лімфоцитів та збільшення моноцитів, що вказує на порушення афекторної ланки імунної відповіді.

На порушення рівноваги в популяційній структурі лейкоцитарних клітин у сенсibilізованих лосьйонем із вмістом 5% міноксиду тварин із формуванням патофізіологічних реакцій вказують індекси ІСНЕ та ІСЛЕ. Індекс співвідношення нейтрофілів до еозинофілів достовірно зменшився в сенсibilізованих тварин на 57,1% та індекс співвідношення лімфоцитів до еозинофілів достовірно зменшився на 64,2% порівняно з контролем (табл. 2). Зниження цих показників у мурчаків дослідної групи вказує на зміщення міжклітинної рівноваги в бік клітин, що беруть участь у реакціях гіперчутливості негайного типу, й активування механізмів імунно-алергічних реакцій.

Таблиця 2

**Вплив лосьйону, що містить 5% міноксиду,
на зміни гематологічних індексів у мурчаків**

| Назва показників | Значення показників, $M \pm m$ | |
|------------------|--------------------------------|-------------------------|
| | Контрольні тварини | Сенсибілізовані тварини |
| ІСНЛ | 0,32±0,06 | 0,34±0,06 |
| ІСНМ | 10,17±1,9 | 7,85±3,7 |
| ІСНЕ | 9,36±2,9 | 5,82±1,6* |
| ІСМЕ | 0,93±0,3 | 1,06±0,4 |
| ІСЛМ | 32,11±6,3 | 18,51±6,8* |
| ІСЛЕ | 28,99±7,4 | 17,46±4,1* |

Примітка: * – вірогідність відмінностей від показників контрольної групи понад 95% ($p < 0,05$).

Оцінка клітинного імунітету у тварин, сенсибілізованих лосьйоном із вмістом 5% міноксиду, показала достовірне зростання пулу СДЗ на 27,5% за рахунок збільшення СД4 на 31,8%, що підкреслює перевагу хелперних механізмів імунної відповіді, очевидно, адаптивного характеру, спрямованої на гальмування алергічних реакцій.

Окрім цього, спостерігалось підвищення СД 22 у відсотках на 54% та в абсолютних величинах – на 82,8%.

При вивченні кількісного та функціонального стану фагоцитарних клітин зафіксовано достовірне підвищення показників у дослідній групі: ФІ – на 74% та ФП – на 35,5% (табл. 3).

Таблиця 3

**Вплив лосьйону, що містить 5% міноксиду,
на стан клітинної ланки набутого імунітету**

| Показники | Значення показників, $M \pm m$ | | |
|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------|-----|
| | Контрольні тварини | Сенсибілізовані тварини | Т |
| Т-лімфоцити (СД3), % | 50,17±0,94 | 54±2,72 | 1,3 |
| Т-лімфоцити (СД3), Г/л | 5,74±0,26 | 7,32±0,52* | 2,7 |
| Т-хелпери (СД4), % | 31,83±1,17 | 35,83±2,17 | 1,6 |
| Т-хелпери (СД4), Г/л | 3,65±0,22 | 4,81±0,27* | 3,3 |
| Т-цитотоксичні (СД8), % | 18,33±0,56 | 18,17±2,77 | 0,1 |
| Т-цитотоксичні (СД8), Г/л | 2,1±0,08 | 2,51±0,47 | 0,9 |
| НК-клітин (СД16), % | 18,83±0,79 | 17,83±1,54 | 0,6 |
| НК-клітин (СД16), Г/л | 2,14±0,08 | 2,44±0,29 | 1,0 |
| Імунорегуляторний індекс (ІРІ) | 1,74±0,3 | 1,92±0,96 | 1,3 |
| В-лімфоцити (СД22), % | 20,33±0,76 | 31,33±1,43* | 6,8 |
| В-лімфоцити (СД22), Г/л | 2,32±0,09 | 4,24±0,28* | 6,6 |
| Фагоцитарний показник (ФП), % | 47,3±1,7 | 64,04±6,2* | 2,6 |
| Фагоцитарний індекс (ФІ) | 3,86±0,13 | 6,72±0,59* | 4,8 |

Примітка: * – вірогідність відмінностей від показників контрольної групи понад 95% ($p < 0,05$).

Порушення СД3, СД4, СД22 та фагоцитарного індексу можуть свідчити про токсичний вплив на клітинну ланку імунітету.

У крові дослідних тварин відмічалось зростання рівня циркулюючих імунних комплексів як відповідь на присутність міноксидозв'язаних біомолекулярних структур повноцінної антигенної природи. ЦІК достовірно

збільшилися на 43,4% у сенсibiliзованих тварин порівняно з контрольною групою, що засвідчує формування процесів алергічних реакцій імунотоксичного типу. Підвищений рівень ЦК вказує на стимуляцію імунної відповіді на надходження антигенів, які запускають ланцюги патологічних змін, що призводять до аутоімунних захворювань (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив лосьйону, що містить 5% міноксиду, на стан гуморальної ланки набутого імунітету

| Показники | Значення показників, $M \pm m$ | | |
|-------------------------|--------------------------------|-------------------------|-----|
| | Контрольні тварини | Сенсibiliзовані тварини | T |
| ЦК, у.о. | 65,67±6,30 | 94,17±7,87* | 2,8 |
| Імуноглобулін Ig A, г/л | 1,21±0,03 | 1,35±0,1 | 1,3 |
| Імуноглобулін Ig M, г/л | 0,41±0,02 | 0,44±0,02 | 1,3 |
| Імуноглобулін Ig G, г/л | 9,44±1,22 | 13,33±3,19 | 1,1 |

Примітка: * – вірогідність відмінностей від показників контрольної групи понад 95% ($p < 0,05$).

Результати експерименту узгоджуються з даними тестування сенсibiliзуючого ефекту лосьйону із вмістом 5% міноксиду в піддослідних тварин за показниками реакцій: специфічної агломерації лейкоцитів (РСАЛ), специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ) та неспецифічної резистентності організму за показником пошкодження нейтрофілів (ППН) [18].

Висновки. Отримані результати дають підставу стверджувати, що лосьйон із вмістом 5% міноксиду при комплексній сенсibiliзації мурчаків викликає достовірні зміни показників периферичної крові організму. Виявлена в піддослідних тварин картина лейкоформули свідчить про зрушення імунотоксичного гомеостазу. В умовах експерименту спостерігалися зрушення клітинної ланки імунітету: підвищення СДЗ, СД4 в абсолютних величинах та СД22 у відсотках і в абсолютних величинах порівняно з тваринами контрольної групи, вплив на стан фагоцитарної ланки імунітету та порушення гуморальної відповіді адаптивного імунітету за показником ЦК.

Рекомендовано до друку комісією з етики

ПОСИЛАННЯ

1. Rietschel, Robert L.; Duncan, Susan H. Safety and efficacy of topical minoxidil in the management of androgenetic alopecia. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1987;16(3):677–85. doi: 10.1016/S0190-9622(87)70087-5.
2. Virginia C. Fiedler-Weiss M.D. Topical minoxidil solution (1% and 5%) in the treatment of alopecia areata. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1987;745–8. doi: 10.1016/S0190-9622(87)80003-8.
3. Friedman E.S., Friedman P.M., Washenik K. Allergic contact dermatitis to topical minoxidil solution: Etiology and treatment. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2002; 46(2):309–12. doi: 10.1067/mjd.2002.119104.
4. Rossi A, Cantisani C, Melis L, Iorio A, Scali E, Calvieri S. Minoxidil Use in Dermatology, Side Effects and Recent Patents. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*. 2012; 6(2): P130–6. doi: 10.2174/187221312800166859.
5. Maria Yusuf Dhariwala M. Pharm, Padmini Ravikumar M. Pharm. An overview of herbal alternatives in androgenetic alopecia. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2019; 18(4): P966–75. doi: 10.1111/jocd.12930.
6. Habibullah aktas, Sevil Alan, Elif Betül Türkoglu, Özge sevik. Could Topical Minoxidil Cause Non-Arteritic Anterior Ischemic Optic Neuropathy? 2016;10(8):P01–02. doi: 10.7860/JCDR/2016/19679.8250.
7. Tennstedt D., Herman A., Lachapelle J.-M.. Effets indésirables des soins capillaires chez les utilisateurs. *Ann Dermatol Venerol*. 2018;145(8–9):521–31. doi: 10.1016/j.annder.2018.05.002.
8. Aleid N.M., Fertig R., Maddy A., Tosti A. Common Allergens Identified Based on Patch Test Results in Patients with Suspected Contact Dermatitis of the Scalp. *Skin Appendage Disord*. 2017;3:7–14. <https://doi.org/10.1159/000453530>.
9. BinJadeed H. A Case of Contact Allergic Dermatitis to Topical Minoxidil. *Cureus*. 2021;13(1):e12510. doi: 10.7759/cureus.12510.

10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes 18.III.1986. European Treaty Series No. 123. URL: www.conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm(accessed on 11 April 2005).

11. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах: Наказ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 № 249. Офіційний вісник України 2012;24:82.

12. *Алексеева О.Г., Дуева Л.А.* Аллергия к промышленным химическим соединениям. М.: Медицина; 1978. 272 с.

13. *Трахтенберг ИМ, Дмитруха НМ, Моложава ОС, Миронюк ЮМ.* Порушення імунного статусу організму людини за дії хімічних чинників та методи їх визначення: метод рекомендації. Київ; 2007. 48 с.

14. *Гриневиц ЮА, Алферов АН.* Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных. Лабораторное дело. 1981;8:493–5.

15. *Лаповець ЛС, Луцик БД, Лебедь ГБ, Акімова ВМ.* Посібник з лабораторної імунології. Львів; 2008:26–33.

16. *Glantz SA., Bryan KS.* Primer of Applied Regression and Analysis of Variance. New York: McGraw- Hill, Health Professions Division; 1990. 992 p.

17. *Simon P. Hogan, Helene F. Rosenberg, Redwan Moqbel, Simon Phipps, Paul S. Foster, Paige Lacy, A. Barry Kay & Marc E. Rothenberg.* Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease – Clinical and Experimental Allergy. 2008;38(5):709–50.

18. *Чемодурова НС, Грушка ОІ, Туркіна ВА.* Тестування сенсibiliзуючої активності лосьюну із вмістом міноксидилу in vitro. Мат-ли науково-практичної конф. «Актуальні питання громадського здоров'я та екологічної безпеки України» (XV Марзевські читання). Київ; 2019:190–2.

Стаття надійшла до редакції 18.12.2022