

Wpływ cyklofosfamidu i flukonazolu na cykl włosowy na modelu zwierzęcym – problem łysienia polekowego

Impact of cyclophosphamide and fluconazole on hair cycle in a rodent model – the problem of drug-induced alopecia

Małgorzata Latusek, Ligia Brzezińska-Wcisło

Katedra i Klinika Dermatologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Kierownik: prof. dr hab. med. Ligia Brzezińska-Wcisło

Przegl Dermatol 2013, 100, 16–25

SŁOWA KLUCZOWE:

cykl włosowy, wypadanie włosów, łysienie polekowe.

KEY WORDS:

hair cycle, hair loss, drug-induced alopecia.

STRESZCZENIE

Wprowadzenie. Ważne zagadnienie z punktu widzenia klinicystów i pacjentów stanowią niepożądane działania leków. Obejmują one wiele układów i narządów oraz implikują dalsze postępowanie terapeutyczne. Jednym z nich jest łysienie polekowe, którego mechanizm nie zawsze jest jasny i w wyraźny sposób wiąże się ze stosowanym lekiem. Częstość występowania tego zjawiska u ludzi w skali ogólnej nie jest znana.

Cel pracy. Ocena wpływu cyklofosfamidu i flukonazolu na przebieg cykli włosowych w wariacie doświadczalnym na zwierzętach laboratoryjnych.

Materiał i metodyka. Szczury szczepu Wistar podzielono na równe liczebnie grupy. Szczury z pierwszej grupy (K1) otrzymywały wodę destylowaną, a zwierzęta w grupach badanych (G1, G2) – sondą dożyłkową wybrane leki (po rozpuszczeniu w wodzie destylowanej). W trakcie badania dwa razy w tygodniu dokonywano oceny makroskopowej owłosienia oraz wykonywano trichogram. Na podstawie proporcji włosów anagenowych, katagenowych, telogenowych, dystroficznych oraz niesklasyfikowanych wnioskowano o rodzaju łysienia lub jego braku. Dodatkowo wykonywano wybrane badania laboratoryjne.

Wyniki. We wszystkich analizowanych cyklach w grupie otrzymującej cyklofosfamid stwierdzono zwiększony odsetek włosów telogenowych i dystroficznych oraz przedwczesną inwolucję katagenową, a w grupie otrzymującej flukonazol odpowiednio przedwczesną inwolucję katagenową i zwiększenie odsetka włosów telogenowych.

Wnioski. Badane leki wpływają na przebieg cykli włosowych i odpowiadają za rozwój łysienia polekowego o zmiennym przebiegu, zależnym od czasu ekspozycji.

ABSTRACT

Introduction. Adverse drug reactions play an important role. Often they are severe, involve many organs and determine the further treatment. One of them is drug-induced alopecia. The mechanism of this side effect is still unknown and evidence of drug toxicity is not always proven. The frequency of drug-induced alopecia in humans is not known.

ADRES DO KORESPONDENCJI:

dr n. med. Małgorzata Latusek
Katedra i Klinika Dermatologii
Śląski Uniwersytet Medyczny
ul. Francuska 20/24
40-027 Katowice
e-mail: gosiapiw@poczta.onet.pl

Objective. To assess whether cyclophosphamide and fluconazole induce changes in the hair cycle in a rodent model.

Material and methods. Male Wistar rats were divided into equal groups. Rats in the first group (K1) were receiving distilled water. Rats in the experimental groups (G1, G2) were receiving via a gastric tube selected drugs dissolved in distilled water. Twice a week macroscopic examination was performed, followed by microscopic examination of hair to assess shaft and root abnormalities. Anagen, catagen, telogen and pathologic types of hair were counted. Depending on telogen count and dystrophic hair appearance the type of hair loss was established. In addition some laboratory tests were performed.

Results. Cyclophosphamide increased the telogen and dystrophic count and induced the premature catagen phase in every cycle. Fluconazole also induced premature catagen involution and increased the telogen count.

Conclusions. Cyclophosphamide and fluconazole have an influence on the hair cycle. Each drug triggers a different type of alopecia and its course depends on the time of drug exposure.

WPROWADZENIE

Działania niepożądane leków stanowią ważne zagadnienie z punktu widzenia klinicystów i pacjentów. Obejmują one wiele układów i narządów oraz implikują dalsze postępowanie terapeutyczne ze względu na powstały dyskomfort, a w skrajnych przypadkach stan zagrożenia zdrowia u pacjentów. Jednym z tych niepożądanych działań jest łysienie polekowe, którego mechanizm nie zawsze jest znany i w wyraźny sposób wiąże się ze stosowanym lekiem. Starzenie się populacji, terapie wielolekowe, schorzenia podstawowe oraz współistniejące to główne czynniki zamazujące ten obraz. Dostępne publikacje omawiające to zagadnienie skupiają się przede wszystkim na obserwacjach klinicznych leczonych pacjentów, które zazwyczaj nie są poparte badaniami trichologicznymi.

Cyklofosfamid jest alkilującym lekiem przeciwnowotworowym swoistym dla cyklu komórkowego, który w naszych badaniach został wybrany jako standard wewnętrzny. Oznacza to, że w wyniku jego stosowania zawsze pojawia się wypadanie włosów. Zależność ta była już badana na modelu doświadczalnym przez Brzezińską-Wcisło [1, 2] i obecnie jest wykorzystywana jako wzorzec łysienia polekowego.

Flukonazol według dostępnych danych z piśmiennictwa powoduje przejściową utratę włosów. Klinicznie objawia się ona zazwyczaj przerzedzeniem włosów głowy [3], którego mechanizm nie został poznany, ponieważ choroby, w których ten lek jest stosowany (profilaktyka zakażeń grzybi-

czych u pacjentów chorych na AIDS, zakażonych HIV, z obniżoną odpornością w przebiegu chemioterapii, radioterapii lub leczonych immunosupresyjnie oraz u chorych z neutropenią), w sposób wyraźny wpływają na stan owłosienia i mogą fałszować obserwacje kliniczne.

CEL PRACY

Celem pracy była ocena wpływu cyklofosfamidu oraz flukonazolu na przebieg cykli włosowych zarówno indukowanych, jak i spontanicznych u zwierząt laboratoryjnych oraz analiza porównawcza uzyskanych wyników trichologicznych i klinicznych.

MATERIAŁ I METODYKA

Badanie przeprowadzono na szczurach, samcach szczepu Wistar, pochodzących z Centrum Medycyny Doświadczanej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. Zwierzęta w chwili rozpoczęcia badania miały 30 dni, średnia masa ich ciała wynosiła $68,35 \pm 9,62$ g, miały zapewniony stały dostęp do wody (filtrowanej wodociągowej) oraz paszy (standardowej). Mikroklimat zwierzętarni charakteryzował się stałymi parametrami: temperatury (około 20°C), wilgotności (około 60%), ruchu powietrza oraz rytmu świetlnego (12 : 12 godzin) z cyrkulacją 6:00 i 18:00.

Przez cały okres doświadczenia wynoszący 96 dni szczury z grup doświadczalnych (G1, G2) codziennie otrzymywały sondą dożołądkową następujące leki:

G1 – cyklofosfamid (Endoxan 50 mg, Baxter 3,1 mg/kg m.c./dobę), G2 – flukonazol (Fluconazole Polfarmex 150 mg, Polfarmex S.A. 1,0 mg/kg m.c./dobę), natomiast szczury z grupy kontrolnej (K1) otrzymywały wodę destylowaną (2 ml/kg m.c./dobę).

Przy ustalaniu bezpiecznej dla zwierząt dawki leku opierano się na dostępnych publikacjach dotyczących badań powyższych leków na modelu zwierzęcym, z wykorzystaniem dawek pozwalających na uzyskanie efektów terapeutycznych oczekiwanych u ludzi.

Dodatkowo dla wybranych leków uwzględniono LD_{50} (ang. *dosis lethalis media*) według kart charakterystyki MSDS (ang. *Material Safety Data Sheet*) oraz ich okresy półtrwania ($T_{1/2}$).

W 1., 32. oraz 64. dniu u każdego szczura biorącego udział w eksperymencie wywołano cykl włosowy indukowany (I, II, III) poprzez ręczną epilację pola w okolicy krzyżowej o wymiarach 10 mm × 10 mm. Każdorazowo po przeciwległej stronie grzbietu w polu o analogicznych wymiarach obserwowano cykle spontaniczne.

Badanie trichologiczne wykonywano 1., 4., 8., 11., 15., 18., 22., 25., 29. oraz 32. dnia zarówno cyklu indukowanego, jak i spontanicznego u każdego szczura biorącego udział w doświadczeniu.

W powyższych dniach przy użyciu kleszczyków Kohera z każdego badanego pola wrywano jednorazowo około 100 włosów, które *ex tempore* umieszczano na szkiełku podstawowym w kropli olejku immersyjnego i nakrywano szkiełkiem nakrywkowym. Następnie tak przygotowane preparaty oglądano w mikroskopie świetlnym w powiększeniu 4 × 10 i obliczano w każdym z nich odsetek włosów: anagenowych, katagenowych, telogenowych, dystroficznych i niesklasyfikowanych. Na podstawie uzyskanych wzajemnych proporcji poszczególnych rodzajów włosów wnioskowano o rodzaju łysienia lub jego braku.

Badanie makroskopowe przeprowadzane w analogicznych dniach jak badanie trichologiczne dotyczyło gęstości włosów, ich grubości, barwy, połysku oraz wytrzymałości mechanicznej.

W badaniach laboratoryjnych w wybranych dniach (1., 48. i 96.) oceniano morfologię krwi oraz aktywność aminotransferaz wątrobowych (AspAT, AlAT).

Po zakończeniu doświadczenia wszystkie szczury poddano eutanazji przez dootrzewnowe podanie pentobarbitalu sodu w dawce 200 mg/kg *i.p.*, a następnie przekazano do utylizacji.

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach Nr 68/2009 z dnia 9.10.2009 r.

Analiza statystyczna

Analiza statystyczna oparta była na arkuszu kalkulacyjnym Microsoft Excel, pakiecie statystycznym Statistica oraz następujących testach: test Kołmogorowa-Smirnowa z poprawką Lillieforsa, test nieparametryczny *U* Manna-Whitneya, test kolejności par Wilcoxon, test parametrycznej analizy wariancji *t* testami *post hoc*. We wszystkich testach przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$.

WYNIKI

W celu wykazania różnic i podobieństw we wzroście włosów porównano cykle indukowane (I z I, II z II i III z III) oraz cykle spontaniczne (I z I, II z II i III z III) dla grup K1 oraz G1 i G2. Badania statystyczne objęły: 15. (pojawienia się anagenu VI), 25. (inwolucji katagenowej) i 32. (synchronizacji telogenowej) dzień cyklu.

Dodatkowo dokonano analizy statystycznej uzyskanych wyników badań laboratoryjnych poprzez ich porównanie między grupami.

Grupa kontrolna K1

W grupie kontrolnej K1, w której zwierzęta otrzymywały wodę destylowaną, cykle wywołane I, II, III i samoistne I, II, III przebiegały prawidłowo. Odrost włosów po epilacji nie był opóźniony, a wszystkie cykle trwały 32 dni.

Podczas analizy wyników, uzyskanych na podstawie porównania cykli indukowanych wewnątrz grupy, zwracają uwagę rozbieżności przebiegu cykli I i II oraz podobieństwa przebiegu cykli II i III (tab. I, II), co wiąże się z wystąpieniem fazy katagenu odpowiednio 25. dnia w cyklu indukowanym I oraz 22. dnia w cyklu indukowanym II i III. Ten różny czas inwolucji mieszków włosowych koreluje z wiekiem badanych zwierząt i ma charakter fizjologiczny.

W ocenie makroskopowej futro zwierząt z tej grupy przez cały okres doświadczenia było puszyste i gęste, o białej barwie, a szczury rozwijały się prawidłowo.

Wyniki badań laboratoryjnych nie wykazały odchyleń od stanu prawidłowego.

Grupa badana G1 – cyklofosfamid

Wyniki uzyskane na podstawie porównania cykli indukowanych i spontanicznych w badanej grupie z cyklami w grupie kontrolnej K1 wskazują na zahamowanie podziałów komórkowych w macierzy i powstawanie włosów dystroficznych. Dodatkowo zwiększenie odsetka włosów telogenowych oraz przedwczesna synchronizacja telogenowa w stosunku do grupy kontrolnej pozwalają na rozpoznanie

Tabela I. Porównanie cyklu indukowanego I i II w grupie K1 (prawdopodobieństwo obserwowane)*Table I.* Comparison of I and II induced cycle in group K1 (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.					
25.			0,012		
32.					

Tabela II. Porównanie cyklu indukowanego II i III w grupie K1 (prawdopodobieństwo obserwowane)*Table II.* Comparison of II and III induced cycle in group K1 (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.					
25.			0,123		0,686
32.			0,180		

Tabela III. Porównanie grupy G1 i K1 w przebiegu cyklu indukowanego I (prawdopodobieństwo obserwowane)*Table III.* Comparison of group G1 and K1 in the first induced cycle (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,001				
25.			0,001		0,386
32.			0,001		

Tabela IV. Porównanie grupy G1 i K1 w przebiegu cyklu indukowanego II (prawdopodobieństwo obserwowane)*Table IV.* Comparison of group G1 and K1 in the II induced cycle (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,001				
25.			0,001		
32.			0,958		

Tabela V. Porównanie grupy G1 i K1 w przebiegu cyklu indukowanego III (prawdopodobieństwo obserwowane)*Table V.* Comparison of group G1 and K1 in the III induced cycle (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,001				
25.			0,014		0,475
32.			0,431		

łysienia telogenowo-dystroficznego po zastosowaniu leku (tab. III–V).

Ponadto porównanie cykli indukowanych I z II i II z III pozwala wnioskować o słabnącym w czasie uszkodzeniu mieszków włosowych przez badany lek w miarę wydłużania ekspozycji, a tym samym

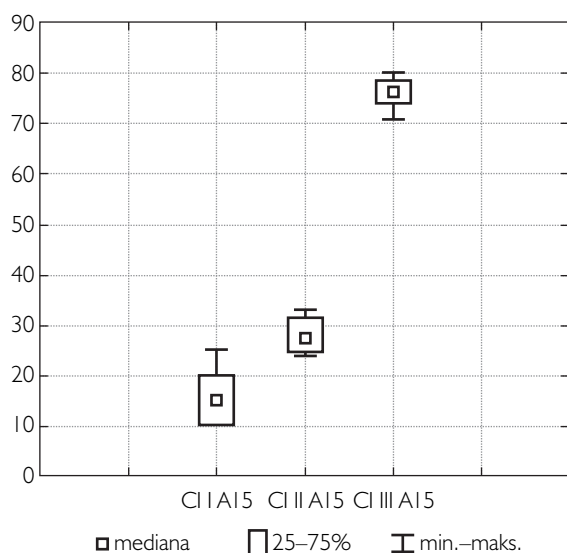
o słabnącej sile procesu chorobowego wyrażonej wzrostem liczby włosów anagenowych i zmniejszeniem się liczby włosów dystroficznych w kolejnych cyklach (tab. VI, VII, ryc. 1., 2.). Znalazło to także potwierdzenie w wynikach uzyskanych na podstawie analizy cykli spontanicznych I, II i III. Wszystkie

Tabela VI. Porównanie cyklu indukowanego I i II w grupie G1 (prawdopodobieństwo obserwowane)**Table VI.** Comparison of I and II induced cycle in group G1 (observed probability)

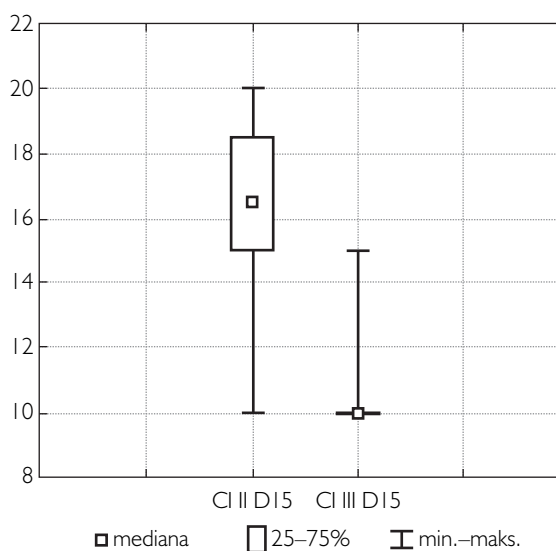
Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,017		0,012		
25.			0,012		
32.			0,012		

Tabela VII. Porównanie cyklu indukowanego II i III w grupie G1 (prawdopodobieństwo obserwowane)**Table VII.** Comparison of II and III induced cycle in group G1 (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,012	0,012		0,043	
25.			0,012		
32.					



CI I A15 – liczba włosów anagenowych w 15. dniu cyklu indukowanego I,
 CI II A15 – liczba włosów anagenowych w 15. dniu cyklu indukowanego II,
 CI III A15 – liczba włosów anagenowych w 15. dniu cyklu indukowanego III

Rycina 1. Rozkład włosów anagenowych w 15. dniu cyklu indukowanego I, II i III w grupie G1**Figure 1.** Anagen hair distribution on day 15 of induced hair cycle I, II and III in group G1

CI II D15 – liczba włosów dystroficznych w 15. dniu cyklu indukowanego II,
 CI III D15 – liczba włosów dystroficznych w 15. dniu cyklu indukowanego III

Rycina 2. Rozkład włosów dystroficznych w 15. dniu cyklu indukowanego II i III w grupie G1**Figure 2.** Dystrophic hair distribution on day 15 of induced hair cycle II and III in group G1

opisane powyżej zmiany objawiały się klinicznie łysieniem rozlanym.

W badaniach laboratoryjnych wykazano w tej grupie powiązanie zaburzeń we wzroście włosów z toksycznym wpływem badanego leku na czynność krwiotwórczą szpiku, gdyż w drugim i trzecim oznaczeniu stwierdzono zmniejszenie liczby leukocytów wielojądrzastych w stosunku do grupy kontrolnej K1.

Grupa badana G2 – flukonazol

W pierwszych cyklach zarówno indukowanych, jak i spontanicznych obserwowano wyraźne różnice w porównaniu z grupą kontrolną K1, wyrażone poprzez skrócenie fazy anagenu oraz przedwczesną synchronizację telogenową, które świadczyły o występowaniu łysienia telogenowego po zastosowaniu leku (tab. VIII).

Tabela VIII. Porównanie grupy G2 i K1 w przebiegu cyklu indukowanego I (prawdopodobieństwo obserwowane)
Table VIII. Comparison of group G2 and K1 in the I induced cycle (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,004				
25.			0,001		0,019
32.			0,958		

Tabela IX. Porównanie grupy G2 i K1 w przebiegu cyklu indukowanego II (prawdopodobieństwo obserwowane)
Table IX. Comparison of group G2 and K1 in the II induced cycle (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,001				
25.			0,001		
32.			0,958		

Tabela X. Porównanie grupy G2 i K1 w przebiegu cyklu indukowanego III (prawdopodobieństwo obserwowane)
Table X. Comparison of group G2 and K1 in the III induced cycle (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,227				
25.			0,115		0,115
32.			0,156		

Tabela XI. Porównanie cyklu indukowanego I i II w grupie G2 (prawdopodobieństwo obserwowane)
Table XI. Comparison of I and II induced cycle in group G2 (observed probability)

Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,012		0,018		
25.			0,012		
32.					

Wyniki uzyskane w cyklu indukowanym II potwierdziły obserwacje wskazujące na uszkodzenie mieszków włosowych przez stosowany lek, natomiast w cyklu spontanicznym II wykluczyły tę zależność (tab. IX).

Kolejno cykle: indukowany III i spontaniczny III, przebiegały jednakowo i nie stwierdzono w ich przebiegu cech uszkodzenia mieszków włosowego, co świadczy o ustąpieniu objawów łysienia po zastosowaniu leku (tab. X).

Przeprowadzona w drugim etapie analiza statystyczna dotycząca porównania badanych cykli w czasie potwierdziła dynamikę opisanych zmian po podaniu leku, świadcząca o jego zmiennym wpływie na mieszek włosowy. Przy porównaniu cykli wywołanych zwraca uwagę nasilające się

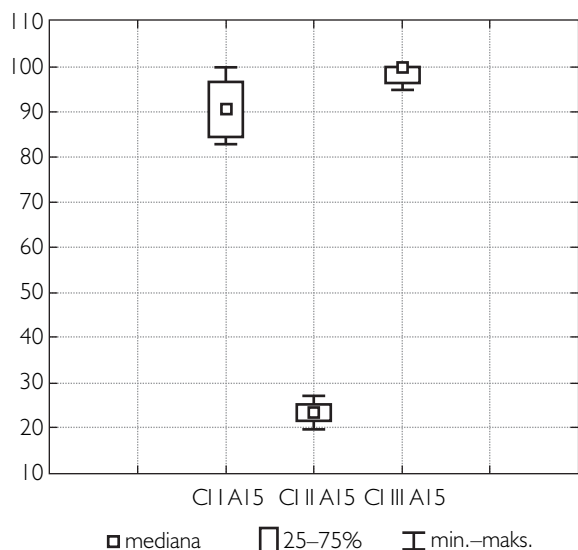
uszkodzenie mieszków włosowego przez badany lek w przebiegu cykli I i II oraz następne jego ustanie w przebiegu cyklu III (tab. XI, XII, ryc. 3., 4.).

W odniesieniu do cykli spontanicznych nie stwierdzono takiej korelacji, gdyż jedynie w cyklu I flukonazol powodował łysienie, natomiast cykle II i III przebiegały prawidłowo.

Wyniki te w wyraźny sposób wskazują na zmniejszenie toksycznego wpływu flukonazolu na mieszek włosowy w miarę wydłużania czasu ekspozycji oraz większą wrażliwość mieszków włosowych w przebiegu cykli wywołanych. Obserwowane zmiany znalazły odzwierciedlenie w makroskopowej ocenie owłosienia u badanych szczurów, które w przebiegu cykli indukowanych I i II było wyraźnie przerzedzone, natomiast w przebiegu cyklu indukowanego III

Tabela XII. Porównanie cyklu indukowanego II i III w grupie G2 (prawdopodobieństwo obserwowane)
Table XII. Comparison of II and III induced cycle in group G2 (observed probability)

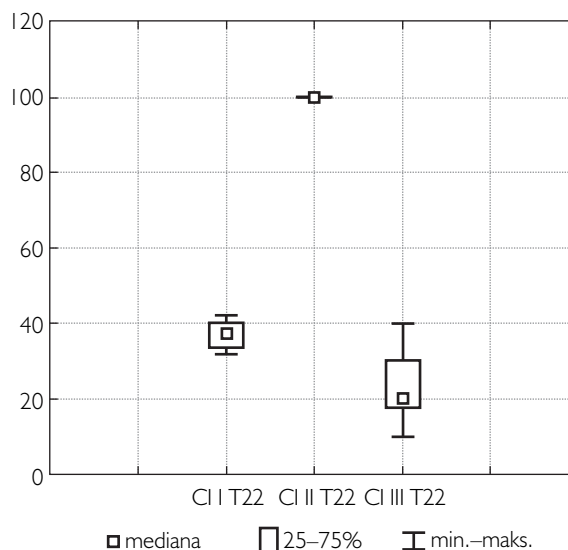
Dzień cyklu	Włosy anagenowe (p)	Włosy katagenowe (p)	Włosy telogenowe (p)	Włosy dystroficzne (p)	Włosy niesklasyfikowane (p)
15.	0,012				
25.			0,012		
32.			0,028		



CI I A15 – liczba włosów anagenowych w 15. dniu cyklu indukowanego I, CI II A15 – liczba włosów anagenowych w 15. dniu cyklu indukowanego II, CI III A15 – liczba włosów anagenowych w 15. dniu cyklu indukowanego III

Rycina 3. Rozkład włosów anagenowych w 15. dniu cyklu indukowanego I, II i III w grupie G2

Figure 3. Anagen hair distribution on day 15 of induced hair cycle I, II and III in group G2



CI I T22 – liczba włosów telogenowych w 22. dniu cyklu indukowanego I, CI II T22 – liczba włosów telogenowych w 22. dniu cyklu indukowanego II, CI III T22 – liczba włosów telogenowych w 22. dniu cyklu indukowanego III

Rycina 4. Rozkład włosów telogenowych w 22. dniu cyklu indukowanego I, II i III w grupie G2

Figure 4. Telogen hair distribution on day 22 of induced hair cycle I, II and III in group G2

zdecydowanie się poprawiło i cechowało się brakiem zmian w stosunku do grupy kontrolnej K1.

Wyniki badań laboratoryjnych w tej grupie mieściły się w normach dla danego gatunku, co sugeruje dobrą tolerancję badanego leku i jego dawki przez szczury.

OMÓWIENIE

Uzyskane w doświadczeniu wyniki potwierdziły toksyczny wpływ badanych leków na mieszek włosowy. Jak wynika z dostępnych danych z piśmiennictwa, podobne badanie przeprowadzone przez Szeremetę-Bazylewicz i Brzezińską-Wcisło wykazało także, że cyklofosfamid podawany dożołądkowo powoduje u zwierząt laboratoryjnych łysienie telogenowo-dystroficzne, a w miarę kontynuowania podawania leku powstaje swego rodzaju „oporność” na cytostatyki [4]. Również Brzezińska-Wcisło w badaniach na modelu zwierzęcym wykazała, że cyklo-

fosfamid podawany dootrzewnowo dwa razy w tygodniu w dawce 10 mg/100 g m.c. wywołuje łysienie dystroficzne [2]. Paus i wsp. [5] w doświadczeniu na myszach C57BL-6 także wykazali, że cyklofosfamid w jednorazowej dawce 10–150 mg/kg m.c. podany dootrzewnowo powoduje powstanie dystroficznych włosów katagenowych i anagenowych. Ponadto autorzy ci stwierdzili, że cyklofosfamid wywołuje powstawanie dwóch typów dystrofii mieszków włosowych. Bardziej uszkodzone mieszki anagenowe były przekształcane w typ dysC, z towarzyszącym szybkim ścięciem łodygi włosa oraz nagłym zahamowaniem melanogenezy, lub w typ dysA, ze zmiennym ścięciem łodygi oraz postępującą, lecz nieprawidłową melanogenezą. W obrazach histopatologicznych obserwowano charakterystyczne zmiany obejmujące nietrzymanie barwnika złogi melaniny, uwypuklenie brodawki skórnej zmiany kanału mieszka, które są wspólne dla opisanego modelu łysienia u zwierząt i ludzi [5]. Bodó i wsp. uważają, że za opisane zmiany w mieszkach włosow-

wych odpowiada 4-hydroperoksyklofosfamid, indukujący ponadto oksydację łańcuchów DNA oraz powodujący powstawanie delecji w mitochondrialnym DNA [6].

U ludzi łysienie cytostatyczne często wykazuje różne nasilenie. Wiąże się to z odmienną wrażliwością poszczególnych mieszków włosowych w okresie wzrostu na toksyczne działanie cyklofosfamidu [1]. W niektórych przypadkach wypadanie włosów dotyczy całej głowy, a w innych głównie okoliczności, gdyż mieszki zlokalizowane na obwodzie głowy wykazują często większą oporność na cytostatyki [2]. Zaobserwowane w badaniach własnych zmniejszenie toksycznego działania leku na mieszki włosowe znajduje także potwierdzenie w obserwacjach klinicznych leczonych pacjentów. Wiadomo, że generacja włosów odrastająca podczas terapii cytostatykami z grupy leków alkilujących wykazuje swoistą oporność na nie, a kontynuacja leczenia lub ponowne jego rozpoczęcie nie powoduje łysienia.

W kontekście opisanego doświadczenia ciekawe jest także badanie przeprowadzone przez Jonge i wsp. [7], którzy wykazali, że terapia z zastosowaniem dużych dawek cyklofosfamidu, karboplatyny i tiotepy może powodować trwałe wyłysienie u leczonych pacjentów. Zwrócili oni także uwagę, że pomimo innych ostrych i niebezpiecznych dla zdrowia działań niepożądanych związanych z chemioterapią, efekt ten powinien być brany pod uwagę przy optymalizacji leczenia.

Poczynione na podstawie przeprowadzonego badania obserwacje dotyczące wpływu flukonazolu na mieszki włosowe nawiązują do danych przedstawionych przez Pappasa i wsp. [8], którzy wykazali, że flukonazol podawany przewlekłe w dawce 400 mg powoduje łysienie u 88% leczonych pacjentów, które ujawnia się w ciągu 3 miesięcy po rozpoczęciu terapii i ustępuje w ciągu 6 miesięcy po jej zakończeniu lub w trakcie. Na szczególną uwagę zasługuje jednak fakt, że w opisanym badaniu schorzenia podstawowe mogły fałszować przedstawione dane, gdyż 11 spośród badanych pacjentów było nosicielami wirusa HIV, a 1 cierpiało na układową postać toczenia rumieniowatego. Wiadomo, że obie choroby w wyraźny sposób wpływają na owłosienie, powodując odpowiednio łysienie telogenowe, nasilenie łysienia androgenowego lub łysienie dystroficzne, a rzadziej mieszane [9–11].

W kontekście przeprowadzonego przez nas badania należałoby przeanalizować wpływ układu hormonalnego na obserwowane łysienie. Jak postulują badacze, duże stężenia flukonazolu hamują aktywność aromatazy w jajnikach samic szczura [12], jednak lek podawany w dawkach 50 mg/dobę przez 28 dni nie wpływa na stężenie testosteronu w osoczu mężczyzn lub na stężenie steroidów

u kobiet w wieku rozrodczym [13], natomiast w dawkach 200–400 mg na dobę wpływa w stopniu nieistotnym klinicznie na stężenie endogennych steroidów lub odpowiedź na stymulację ACTH (hormon adrenokortykotropowy) u zdrowych mężczyzn [14].

Wiadomo, że dihydrotestosteron (DHT) stymuluje syntezę TGF- β_2 (ang. *transforming growth factor - β_2*) w komórkach brodawki skórnej, co powoduje supresję proliferacji komórek nabłonkowych i stymuluje syntezę określonych kaspaz, przez co przyczynia się do zapoczątkowania eliminacji komórek nabłonkowych na drodze apoptozy. Ta sekwencja zdarzeń przyczynia się do skrócenia fazy wzrostu włosów, a co za tym idzie – do rozwoju łysienia o charakterze łysienia androgenowego [15]. Zagadnienie to nie zostało jednak wyjaśnione z uwagi na ograniczenia wybranego modelu doświadczalnego, gdyż – jak wykazali Kostanecki i wsp. – androgeny nie wpływają na przebieg cyklu włosowego u szczurów, lecz jedynie zwiększają grubość włosów [16].

Należałoby przeanalizować także wpływ flukonazolu na stężenie endogennych pochodnych kwasu retinowego. Lek ten, podobnie jak liazol, imidazol oraz pochodne benzimidazolu, hamuje zależny od cytochromu P-450 metabolizm pochodnych kwasu retinowego, co przyczynia się do wzrostu ich stężeń i w konsekwencji prowadzi to do wystąpienia takich działań niepożądanych, jak suchość skóry i śluzówek, a także ma niekorzystny wpływ na stan owłosienia. Potwierdzają to wyniki przeprowadzonych badań, które wykazały istotną rolę pochodnych witaminy A w regulacji wzrostu, różnicowaniu i utrzymaniu naskórka oraz mieszków włosowych u ssaków. Wiadomo, że związki te działają poprzez swoiste receptory jądrowe (NRs) należące do dwóch rodzin RAR α , β i γ (ang. *the retinoic acid receptors α , β and γ*) oraz RXR α , β i γ (ang. *retinoid X receptors α , β and γ*). Receptory RXR wykazują ekspresję w naskórku i mieszkach włosowych, przez co mogą być zaangażowane w ich rozwój oraz utrzymanie homeostazy [18]. Li i wsp. [19] wykazali, że inicjacja utraty włosów zależy od roli RXR α we wczesnych podokresach anagenu. Z kolei w postępie procesu chorobowego większą rolę odgrywa prawdopodobnie receptor RXR β . Kliniczne implikacje tej zależności znajdują wyraz w bardziej nasilonej utracie włosów u kobiet niż u mężczyzn, co wiąże się z wyższymi poziomami RXR β w ich skórze. Zjawisko to potwierdzają także obserwacje przebiegu łysienia przeprowadzone u zwierząt laboratoryjnych, u których stwierdzono różnice nasilenia utraty włosów pomiędzy powierzchnią grzbietową a brzusznią, co prawdopodobnie wiąże się z różnymi poziomami RXR β (są one wyższe na powierzchni grzbietowej) [20].

Pomimo przedstawionych w dyskusji zależności, mechanizm łysienia po zastosowaniu flukonazolu wymaga dalszych badań, uwzględniających także powszechnie stosowane miejscowo preparaty przeciwgrzybicze w leczeniu łojotokowego zapalenia skóry głowy i łupieżu [21], które być może pomogą bliżej poznać te zależności i rzucać światło na wysuwane hipotezy.

Problem łysienia polekowego dotyczy jednak dużo szerszej grupy leków poza wybranymi do doświadczenia, a jeśli chodzi o mechanizmy uszkodzenia mieszka włosowego, na plan pierwszy wysuwa się łysienie telogenowe. Pojawia się ono najczęściej po kilku miesiącach terapii i niekiedy trudno rozstrzygnąć, czy jest skutkiem stosowanego leku, czy też wiąże się ze schorzeniem podstawowym lub współistniejącym. Najczęściej u ludzi przebiega subklinicznie, prowadząc do utraty mniej niż 50% włosów i dotyczy przede wszystkim owłosionej skóry głowy, a rzadziej innych okolic. Lekami odpowiedzialnymi za występowanie tego zjawiska są antykoagulanty, powodujące łysienie u 50% stosujących je pacjentów, które pojawia się 1–12 tygodni po ostatniej dawce. Początkowo odpowiedzialna za to zjawisko była głównie heparyna niefrakcjonowana, lecz obecnie wykazano, że takie samo działanie niepożądane mają heparyny drobnocząsteczkowe oraz warfaryna [22, 23].

Kolejno retinoidy monoaromatyczne drugiej generacji prowadzą po 3–8 tygodniach stosowania do utraty włosów w obrębie skóry owłosionej głowy, rzęs, brwi i okolic pciowych u 20–30% leczonych pacjentów, a mechanizm ich działania na mieszki włosowe został omówiony powyżej [24].

Toksyczny wpływ pochodnych kwasu retinowego na mieszki włosowe wykazano także w badaniach przeprowadzonych przez pracowników Katedry i Kliniki Dermatologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, w których na modelu zwierzęcym stwierdzono, że izotretynoina początkowo wywołuje w cyklu indukowanym i samoistnym łysienie telogenowe, a następnie telogenowo-dystroficzne [4].

Leki modyfikujące przebieg choroby (ang. *disease-modifying antirheumatic drugs* – DMARD), do których należą: sole złota, metotreksat, leflunamid, sulfasalazyna, takrolimus, mykofenolan mofetylu, są odpowiedzialne za wystąpienie łysienia polekowego u 1–10% leczonych pacjentów, zależnego zarówno od bezpośredniego wpływu leku na mieszki włosowe (metotreksat), jak i będącego zjawiskiem wtórnym, związanym z jego toksycznym działaniem na skórę (sole złota) [25].

W poszczególnych dziedzinach medycyny, takich jak psychiatria, neurologia oraz kardiologia, również stosuje się wiele środków odpowiedzialnych za występowanie łysienia polekowego. W przypadku

dwóch pierwszych na szczególną uwagę zasługują: karbamazepina odpowiedzialna za łysienie u 3,5–10% leczonych pacjentów, kwas walproinowy – u 2,6–12%, sole litu – u 12–17%, oraz leki dopaminergiczne – u 20–30% pacjentów [25, 26].

W przypadku pacjentów kardiologicznych szczególne ryzyko łysienia dotyczy chorych stosujących leki hipolipemizujące, inhibitory konwertazy angiotensyny, leki β -adrenolityczne oraz leki blokujące kanały wapniowe [27]. W przypadku pierwszej grupy leków za to przykre działanie niepożądane odpowiedzialne są zarówno statyny, jak i fibraty. Częstość występowania łysienia, które zwykle jest przejściowe i dotyczy zarówno włosów głowy, jak i innych okolic, określono na 1–5% [28, 29].

Wymienione leki stosowane w terapii nadciśnienia, choroby niedokrwiennej oraz niewydolności krążenia różnią się między sobą mechanizmem działania, jednak wspólną ich cechą jest wywoływanie łysienia odwracalnego [30].

Kolejne grupy leków indukujące łysienie wpływają na homeostazę hormonalną organizmu [26]. Należą do nich: środki stosowane w terapii schorzeń gruczołu tarczowego, takie jak: propylotiouracyl, karbimazol, metizol, które mogą indukować jatrogenną niedoczynność oraz syntetyczne hormony tarczycy stosowane w terapii substytucyjnej [31].

Doustne środki antykoncepcyjne powodują łysienie u 8,8% stosujących je kobiet. Łysienie to występuje w dwóch odmianach. W pierwszej odmianie zwiększona utrata włosów pojawia się w ciągu około 3 miesięcy od zakończenia terapii, klinicznie odpowiada łysieniu poporodowemu i wiąże się z częściową synchronizacją mieszków włosowych pod wpływem estrogenów, przedłużeniem fazy wzrostu i gwałtownym ich wejściem w fazę katagenu na skutek zmniejszenia stężenia hormonów w następstwie zakończenia terapii. W drugim przypadku łysienie wiąże się z androgenicznym działaniem progestagenów wchodzących w skład pigułki.

Do pozostałych leków wpływających na gospodarkę hormonalną i odpowiedzialnych za rozwój łysienia należą: androgeny, steroidy anaboliczne (testosteron oraz nandrolon), antyestrogeny, inhibitory aromatazy (tamoksyfen, letrozol) oraz agoniści gonadoliberyny. Wszystkie one powodują łysienie androgenowe o klasycznym obrazie klinicznym [32].

Klasyczne łysienie anagenowe obserwowane jest rzadziej. Wiąże się ono z hamowaniem podziałów mitotycznych w mieszku włosowym głównie przez chemioterapeutyki lub metale ciężkie, a jego patomechanizm został szerzej omówiony w części poświęconej cyklofosfamidowi. Łysienie to przebiega zawsze z wyraźną manifestacją kliniczną, gdyż około 85% włosów głowy znajduje się w fazie anagenu i stanowi potencjalny cel dla działającego czynnika. Niekie-

dy po wymienionych środkach można obserwować także łysienie mieszane powstające w przypadku współistnienia obydwu mechanizmów.

Na zakończenie należy jeszcze raz podkreślić ogromną rolę włosów w życiu człowieka, w kształtowaniu jego wizerunku oraz ich wpływ na relacje międzyludzkie. Łysienie polekowe stanowi ogromny problem kliniczny i niejednokrotnie stygmat choroby. Określenie to dotyczy szczególnie schorzeń nowotworowych, kiedy pacjenci boją się odrzucenia przez społeczeństwo. Zrozumienie mechanizmów łysienia polekowego pozwoli więc, miejmy nadzieję, na skonstruowanie skutecznego arsenału leków, substancji i środków zwalczających, a przynajmniej ograniczających tę dolegliwość. Niestety obecnie ich liczba jest niewielka, a możliwość zastosowania ograniczona.

Piśmiennictwo

1. **Brzezińska-Wcisło L.:** Badania wpływu wybranych leków na dynamikę wzrostu włosów przeprowadzone na podstawie wariantu doświadczalnego na modelu szczurów rasy Wistar oraz ocena skuteczności tych leków w aspekcie klinicznym i trichologicznym w łysieniu rozlanym kobiet. Rozprawa habilitacyjna, Śląska Akademia Medyczna, Katowice, 1996.
2. **Brzezińska-Wcisło L.:** Badanie wpływu cyklofosfamidu na dynamikę wzrostu włosów u szczurów. *Przegl Dermatol* 1993, 80, 330-334.
3. **Sugar A.M., Alsip S.G., Galgiani J.N., Graybill J.R., Dismukes W.E., Cloud G.A. i inni:** Pharmacology and toxicity of high-dose ketoconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1987, 31, 1874-1878.
4. **Szeremeta-Bazylewicz G., Brzezińska-Wcisło L.:** Ocena wpływu wybranych leków na dynamikę wzrostu włosów u szczurów szczepu Wistar. *Przegl Dermatol* 2005, 92, 451-459.
5. **Paus R., Handjiski B., Eichmuller S., Czarnetzki B.M.:** Chemotherapy-induced alopecia in mice. Induction by cyclophosphamide, inhibition by cyclosporine A, and modulation by dexamethasone. *Am J Pathol* 1994, 144, 719-734.
6. **Bodó E., Tobin D.J., Kamenisch Y., Bíró T., Berneburg M., Funk W. i inni:** Dissecting the impact of chemotherapy on the human hair follicle: a pragmatic in vitro assay for studying the pathogenesis and potential management of hair follicle dystrophy. *Am J Pathol* 2007, 171, 1153-1167.
7. **Jonge M., Mathôt R.A.A., Dalesio O., Huitema A.D.R., Rodenhuis S., Beijnen J.H.:** Relationship between irreversible alopecia and exposure to cyclophosphamide, thiotepa and carboplatin (CTC) in high-dose chemotherapy. *Bone Marrow Transplant* 2002, 30, 593-597.
8. **Pappas P.G., Kauffman C.A., Perfect J., Johnson P.C., McKinsey D.S., Bamberger D.M. i inni:** Alopecia associated with fluconazole therapy. *Ann Intern Med* 1995, 123, 354-357.
9. **Rappersberger K.:** HIV/AIDS. [w:] Braun Falco. *Dermatologia*. W.H.C. Burgdorf, G. Plewig, H.H. Wolff, M. Landthaler (red.), Wydawnictwo Czelej, Lublin, 2010, 290-320.
10. **Brzezińska-Wcisło L., Bogdanowski T., Koślacz T., Hawrot-Kawecka A.:** Badania trichologiczne u kobiet chorych na cukrzycę. *Wiad Lek* 2000, 53, 30-33.
11. **Brzezińska-Wcisło L.:** Łysienia związane z chorobami ustroju. *Przew Lek* 2000, 5, 97-98.
12. **Watanabe H., Menzies J.A.:** Inhibition of ovarian aromatase by ketoconazole. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1986, 54, 181-189.
13. **Hanger D.P., Jevons S., Shaw J.T.:** Fluconazole and testosterone: in vivo and in vitro studies. *Antimicrob Agents Chemother* 1988, 32, 646-648.
14. **Touchette M.A., Chandrasekar P.H., Milad M.A., Edwards D.J.:** Contrasting effects of fluconazole and ketoconazole on phenytoin and testosterone disposition in man. *Br J Clin Pharmacol* 1992, 34, 75-78.
15. **Hibino T., Nishiyama T.:** Role of TGF-beta2 in the human hair cycle. *J Dermatol Sci* 2004, 35, 9-18.
16. **Kostanecki W.:** Choroby włosów. Wyd. II, PZWL, Warszawa, 1979.
17. **Lowell A., Goldsmith M.D.:** Alopecia associated with fluconazole therapy. *Ann Intern Med* 1996, 125, 153.
18. **Reichrath J., Mittmann M., Kamradt J., Müller S.M.:** Expression of retinoid-X receptors (-alpha, -beta, -gamma) and retinoic acid receptors (-alpha, -beta, -gamma) in normal human skin: an immunohistological evaluation. *Histochem J* 1997, 29, 127-133.
19. **Li M., Chiba H., Warot X., Messaddeq N., Gérard C., Chambon P. i inni:** RXRalpha ablation in skin keratinocytes results in alopecia and epidermal alterations. *Development* 2001, 128, 675-688.
20. **Li M., Indra A.K., Warot X., Brocard J., Messaddeq N., Kato S. i inni:** Skin abnormalities generated by temporally controlled RXRalpha mutations in mouse epidermis. *Nature* 2000, 407, 633-636.
21. **Brzezińska-Wcisło L., Wcisło-Dziadecka D., Bergler-Czop B.:** Nowości w patogenezie i terapii łojotokowego zapalenia skóry głowy i łupieżu. *Dermatol Prakt* 2011, 4, 7-13.
22. **Asper R., Horl W.H., Sunder-Plassmann G.:** Dalteparin induced alopecia in hemodialysis patients: reversal by regional citrate anticoagulation. *Blood* 2001, 97, 2914-2915.
23. **Wang Y.Y., Po H.L.:** Enoxaparin-induced alopecia in patients with cerebral venous thrombosis. *J Clin Pharm Ther* 2006, 31, 513-517.
24. **Chave T.A., Mortimer N.J., Hutchinson P.E.:** Agranulocytosis and total scalp alopecia following acitretin. *Br J Dermatol* 2003, 148, 1063-1064.
25. **Burrows N.P., Grant J.W., Crisp A.J., Roberts S.O.:** Scarring alopecia following gold therapy. *Acta Derm Venereol* 1994, 74, 486.
26. **Piraccini B.M., Iorizzo M., Rech G., Tosti A.:** Drug-induced hair disorders. *Curr Drug Saf* 2006, 1, 301-305.
27. **Llau M.E., Viraben R., Montastruc J.L.:** Drug-induced alopecia: review of the literature. *Therapie* 1995, 50, 145-150.
28. **Trüeb R.M.:** Diffuse hair loss. [w:] Hair growth and disorders. U. Blume-Peytavi, A. Tosti, D.A. Whiting, R. Trüeb (red.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2008, 269.
29. **Shapiro J.:** Hair loss in women. *N Eng J Med* 2007, 357, 1620-1630.
30. **Keplar K.E.:** Alopecia, hirsutism and hypertrichosis. [w:] Drug-induced diseases. Prevention, detection and management. J.E. Tisdale, D.A. Miller (red.). American Society of Health-System Pharmacists, Bethesda, 2010, 135-179.
31. **Perger L., Bürgi U., Fattinger K.:** Pharmacotherapy of hyperthyreosis-adverse drug reactions. *Ther Umsch* 2011, 68, 303-308.
32. **Thiedke C.C.:** Alopecia in women. *Am Fam Physician* 2003, 67, 1007-1014.

Otrzymano: 6 VIII 2012 r.

Zaakceptowano: 10 XII 2012 r.