

PROCAPİL KLİNİK ÇALIŞMALAR



Procapil Complex™

SİNOPSIS

Açıklama: Solüsyon içindeki tamamlayıcı etken maddelerin bileşimi.

INCI adı: Biotinyl Tripeptid (ve) Apijenn (ve) Oleanolik Asit .

Aşağıdaki çalışmalarda objektif olarak kozmetik activite göstermiştir:

In vitro çalışmalarda:

Saç folikülü üzerinde peptit Biotinyl-GHK'nin etkisi, varlığı –(Bioalternatives ait çalışma)

Kültür edilen saç folikülleri üzerinde yaşlanmayı geciktirme çalışması (Bio-Ec çalışması):

2 ppm Biotinyl-GHK içinde inkube edilen sac folikullerindeki çıkış hızı 2 ppm (10 µM) Minoxidil içinde inkube edilen sac folikullerindeki çıkış hızına benzer sonuc vermiştir. 5 ppm Biotinyl-GHK ile sac çıkış hızı 121% daha büyük olmuştur.

Gen aktivasyonu (DNA dizisi)

(Bioalternatives çalışması)

In vivo çalışmalar:

4 ay boyunca plasebo kontrollü klinik deney

(Laboratoires DERMSCAN).

Oral Finasteride® tedavisi uygulanan gurubun test sonuçlarıyla karşılaştırmalı olarak yapılan ve Telojen aşamanın bir döngüsünü kapsayan 4 aylık klinik deneyin sonuçunda anajen/telojen oranında anlamlı ve önemli bir artış gerçekleşmiştir..

Güvenlik: UNITIS Charter'in bağlamında onaylanmıştır

Talep üzerine sunulacak raporlar:

Uzman Raporu

HET CAM testi

İnsanlar üzerinde patch testi

RIPT

Ames' test



İÇİNDEKİLER

Giriş

ETKİNLİK TESTLERİ

1. In vitro çalışmalar
 - 1.1. Kültür edilen saç folikülleri eksplantları üzerinde çalışma
(Saç folikülü üzerinde Biotinyl-GHK'nin varlığı ve kalıcılığı (Bioalternatives çalışması))
 - 1.2. Kültür edilen saç folikülleri üzerinde yaşlanmayı geciktirme çalışması
(BIO-EC çalışması)
 - 1.3. Procapil™ ile gen aktivasyonu
(Bioalternatives çalışması)
2. In vivo çalışması
Dört aylık plasebo kontrollü klinik deney
(Laboratories DermScan).

GİRİŞ

Günden güne saç inceler sonuç olarak saç çizgisi belirgin olarak gerilemiştir : bu olay erkeklerin her gün yaşadığı bir deneyimdir .Artkafa bölgesi hariç bir kellik bölgesi ortaya çıkar bu da özeleştirici olarak endişe ve hayal kırıklığına yol açar.

Erkeklerde saç dökülmesi 20'li yaşlarda %20 iken yıldan yıla %10 artmaya devam eder .Bunun anlamı erkeklerin yarısından fazlası 50 yaşına kadar bu durumdan muzdarip olurlar .Erkeklerin kozmetiğe olan talep gücü buradan da anlaşılmaktadır .

Başlangıçta ılımlı olan saç dökülmesi genç yetişkinlerde görülebilen ve bir andronejik etolojilerinin %95 olabilir.

Dört asır milattan önce , hipokrat harem ağalarını kel olmadığı görülmektedir böylece kellik erkek faktörüne bağlı olduğu keşfediliyor.

Kadınlarda kellik az muzdarip olmaları androjene bağlıdır .Belli koşullar altında stres veya menopoza devresi gibi özel koşullar altında östrojen aniden düşerek testosteronun artması kadınlar da bir dezavantaj oluşturur.

Erkekler ile kadınlar arasındaki bu fark aşırı saç kaybı ya da sabit kellikten yakınma %1 'den daha az bir oranda kadınları erkeklerden ayırır.

Kadınların saçlarındaki diğer bir fark ise :kadın saçının ömrü yüksek oranda daha uzundur .7 yıla kadar çıkar.Erkek saçları için ise bu ömür bazen ortalama olarak söylemek gerekirse kadın saçlarının yarısı kadardır.Harika uzun saçlara kadınlar ulaşabileceği ortaya çıkarmaktadır.

Bununla birlikte ,saç büyüme döngüsü her iki cinsiyette de aynıdır ve 3 aşamadan oluşur ;

Her bir saç bir dermal papilla düzeyinde oluşmaktadır :hangi saç hazne oluşturursa ve daha sonra keratinosit hücre bölünmesi ile uygun saç oluşur .

Saç kökünün üssünde bulunan her bir papilla uyarılarak saçın yenilenme döngüsü tetiklemek için büyüme mesajı alır.

- İlk aşama veya büyüme aşaması anagen olarak bilinir ve 3 ila 4 yıl sürer.

- İkinci aşama 2-3 hafta boyunca büyümeme aşamasıdır .Bu aşama catagen aşamasıdır.

- Üçüncü aşama telogen aşamasıdır .Saç döküldüğü zaman atılma bulger bölgesi ve kıl shaftının dekolman gerilemesi gerektiğinden bu süreç oldukça yavaş olur.

Bu döngü ömür boyunca 25 kez tekrarlanır.

SAÇ MORFENOGENEZİ

Saç ve vücut kılı dermis ve epidermis arasındaki etkileşim tarafından tetiklenir.

Epidermal bir mesaj tarafından uyarılır ,fibroblastlar düzenlemek ve birincil tomurcuk(2) oluşturmak üzere dermiste invaginates bir epidermal plaka(1) oluşumunu sağlar ve keratinosetlere bir sinyal iletir.

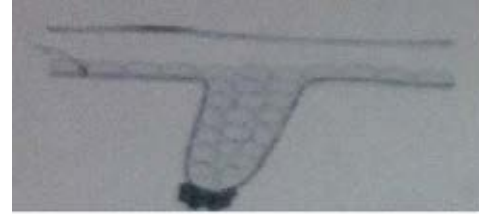
Sırasıyla ,birincil tomurcuk gelecekte dermal papilla getirmek üzere fibroblast stabilize ileti gönderir.

Son olarak ,tomurcuk yavaş yavaş dermal papilla tarafından gönderilen mesajlar etkisi altında saç kökünü farklılaştırır.



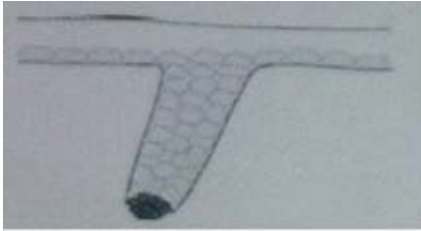
Keratinositlerden bir sinyal sonra epidermal plaka oluşumu

1. Aşama



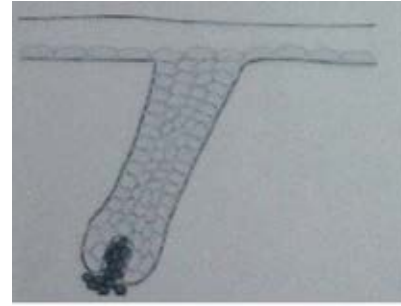
Birincil tomurcuğun formasyonuna sahip dermisteki plakod invijinasyonu

2. Aşama



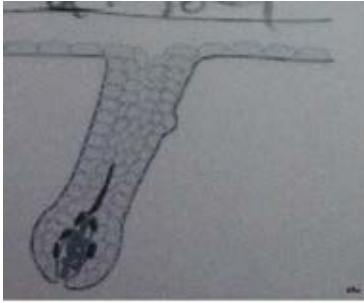
Fibroblastlardan bir işaret bekleyen dermal papillanın yeni başlayan formasyonu

3. Aşama



Farklılaşma : Dermal papilladan gelecek bir işarete karşılık saç kökü formasyonu

4. Aşama



Farklılaşma : Dermal papilladan gelecek bir işarete karşılık saç kökü formasyonu

5. Aşama

Numaralı haberciler dermal-epidermal diyalog içinde etkileşirler ve kesin rolleri aydınlatılmış olmalıdır.

SAÇ VE HÜCRE DİŐİ MATRİS

Saç gelişiminin temel bir birleşeni dermis ile epidermis arasındaki fiziksel etkileşimdir .

Keratinist ile fibroblastların yoğunlaştığı dermal papilla içinde dermis ile epidermis arasındaki fiziksel etkileşim saç büyümesinin temel birleşenidir.Dermal papilla özellikle collagenler ve glycosaminoglycanlar içinde zengin olan bir alandır ki collagenler ve glycosaminoglycanların iki hücre popilasyonu arasındaki yakın etkileşimi muhafaza ederler ve saç gövdesi için gerekli kimyasal etkileşimi kurarlar.Collagen 4 ve lamininin nüfuzu baskılanması gerektirir çünkü bu matris birleşenleri hem dermoepidermal bağlantı noktasının temel zarını hem de dermal papillanın çoğunu inşa ederler (fibronetin ile) . Saç gelişimi için bir matris motoru da hesaba katılabilir.(JOHADA et al,1992),(ALMOND-ROESLER B. et al,1997)

Arabağ matris moleküllerinin gelişiminde oynadığı merkezi rol ve cilttin başkalaşımıyla uzantıları ,TAMIOLAKİS'in (2001)insan cildinin embriyogenezi açık bir şekilde tanımlanmıştır.

12. ve 21. haftalar arasında immünofloresan işaretleme saç gövdesine ait kök şet içindeki laminin collagen 4 ve fibronektinin güçlü kontrasyonunu gösterir .

Öncelikle sadece saç haznesinin epitel jerminal hücreleri içinde bulunan bileşikler (12. Hafta) derece olarak kök şete saldırır sonra saçın çıktığı alana ve dermoepidermal yerine hücum ederler (DEEJ 21. Hafta).

İlk aşama 12 haftadan önce dermaepidermal bazal lamina derecesinde ,ilk hemidesmozon formu olan vitamin görülür (8-9 hafta).

Kültürlenmiş insan saçı köklerinin gelişim ve sağkalım sürecindeki matris bileşenlerin WARREN tarafından da ispatlanmıştır.

Arabağı matris proteinin rolü yeni bir saç tellinin yeniden inşasına öncelik eden olaylar dizisi içinde özellikle ve açık bir şekilde tanımlanır. Hazne yapay olarak bölünüp çıkarıldığında en dıştaki kök şetin keratinosidleri aşağıdaki riskli bölgeye hücum ederler.Fibroblastlar keratinosidlere karşı konuşlanırlar. Bu yeni arabağ alanında collagen 4 ,laminin 5 fibronektin içeren bir matris biçimlenir. Yeni bir dermal papilla inşa edilir ve işlevsel hale gelir (COLİN et al,1992)

Collagen 4 ile lamin 5 'in temel olarak keratinosidler tarafından sentezlendiği ve lamin 5'in iyileşme boyunca dermoepidermal birleşme ile taşınma yanında keratinosidler içinde hayati ve yeri doldurulamaz bir rol oynadığı not edilmelidir.(ROUSSELLE P. 2003)

SAÇ VE EKSİKLİKLERİ

Biyotin ve vitamin H beslenme süreci boyunca vücutta uygun hale getirilen temel bir vitamindir.

Biyotin eksikliği apendoj ve cilt bozuklukları neden olur : hassas ve taranmayan saç(SHELLEY et al,2002),saç dökülmesi, kaşıntı ve deri iltihabına (FRIGG et al,1989;FRITSCHÉ et al,1991).

Biyotin eksikliğine en hassas hücreler neronlar ve keratinosid içerirler(SUORMALA et al ,2002). İnsandaki fizyolojik eksiklikler zihinsel geriliğe ve cilt bozukluğuna neden olur .Bu tam olarak tahmin edilemez , cilt ve beynin ortak emriyolojik merkezi belli değildir.

Epidermis içindeki biyotin ,hususı olarak farklılaşmaz son dönem sytokeratinlerin formasyonunu düzenler.

Biyokimyasal bir bakış açısıyla biyotin mitokodriyal karboksilazların doğru işleyişi için zorunlu bir enzimatik eşçarpandır , aynı zamanda bu proteze ilişkin grubu oluşturmak içindir.

Biyotin mitokodriyal metabolizma içinde bu sebeple hayati bir eşçarpandır.

GEÇ ÇIKAN SAÇLARIN DÖKÜLMESİ VE KULLANILAN STRATEJİK HEDEFLER

BİRİNCİ HEDEF

İlk hedef açık bir şekilde androjeniktir. Amaç 5α -redüktaz ile dihidrotestosteronun üretimini yavaşlatmaktadır. Bu ara ürün (metabolit) testesterondan (kan tarafından az edilen) daha aktiftir çünkü özellikle dermal papilla yerleşik androjen reseptörlerine göre daha muazzam bir benzerliğe sahiptir (ANDERSSON S. 2001)

Dht proaptotik mekanizma aracılığıyla kısa süre önce geliştirilmiş hipotezlere (SAWAYA et al ,2001) göre saç kökünü küçülterek hareket eder. Son zamanlarda geliştirilen bir teze göre dht caspase enzimi aracılığıyla bir proaptotik süreç boyunca saç kökünü zayıflatarak hareket eder .

5α -redüktaz'un iki enzimi ciltte görülür fakat $\alpha 2$ formu daha iç ve daha dış kök set seviyesinde daha çok görüleceği rapor edilirken $\alpha 1$ formu ,yüz (baş) seviyesinde ve dermal papilla seviyesinde saç kökünde daha aktif olacak gibi görülür (BAYNE et al,1999).

L'Oreal'in ekibi (GERST. 2002) bir yapı/eylem ilişkisi çalışması içinde, belli $\alpha 1$ - redüktazlarından ya da karma $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ -redüktazlarından farklı olarak, $\alpha 2$ -redüktazına ait belli bir önleyicinin kültürlenmiş saç kökleri üzerinde aktif olmadığını gösterdi.

Finasteride gibi ($5\alpha 2$ -redüktazı üzerindeki etkisinden dolayı orijinal olarak prostatik hipertropi için geliştirilmiş bir ilaç) bir karma $5\alpha 1$ ve $5\alpha 2$ -redüktaz önleyicisinin kullanımı, saç çizgisi önemli ölçüde gerileme olan hastalardaki saç kaybında kayda değer bir azalma sağlamıştır.

Böylece bir yılın ardından basit 5α -redüktaz engellemesi süresince anajen evredeki saçta %47 A artışı sağlanmıştır (VAN NESTE et al, 2000).

Bu etki DHT seviyelerindeki (%50) lokal bir artışa göre hesaplanır. Böylece DHT normal kafa derisi içinde bulunan yoğunlaşmada görülür (VAN NESTE et al, 1994).

İKİNCİ HEDEF

İkinci hedef kandır: iyi kılcıl perfüzyon orijinal bir şekilde bir antihipertansif (kan basıncı düşürücü) olarak kullanılan (Minoxidil®) bir dış damar genişleticinin beklenmeyen başarısını açıklayacak gelişmiş mekanizmadır. İlginç yan etkisi, saçların yeniden çıkması, yüksek tansiyonu tedavi etmek için ilacın klinik kullanımı sürecinde keşfedildi.

Etki, kılcıl perfüzyonun artmasına bağlı iken minimize edilmemelidir, “Minoxidil®”in saç kökü içinde hâlihazırda ayrılmış keratinosidlerin aktif çoğalmasını sürdürerek hareket ettiği de bilinmektedir (BOYERA N., 1997)

ÜÇÜNCÜ HEDEF

“Minoxidil®”in yüksek-proliferatif etkisine ek olarak, (100 µM'den az yoğunluk) daha yüksek bir dozda, bir ön-ayırıcı etki (bir milimol düzeyinden) rapor edilmiştir. Bu etkiye saç kökü içinde lokal yığılmanın olduğu uzun süreli bir tedavide ulaşılabilir. Sonuç olarak, saç kaybı gerilemiştir. Böylece yüksek-proliferatif ve ön-ayırıcı etki üçüncü hedefi önümüze koyar.

SAÇ KAYBINI GECİKTİRMEK İÇİN SEDERMA KONSEPTİ

Tetikleyici ya da şiddetlendirici potansiyel sebeplerin ileri düzeyde keşfi ve saç morfojenezi hakkında günümüz anlayışının temellendiği açık sonuç, kelliğin, yüksek derecede kompleks, çok fonksiyonlu bir mekanizma içerdiği. Bu yüzden, saç kökünün oluşumunu ve saçın gelişme sürecinin ilerleyişini kontrol etmeye yönelik yaklaşımlar iddiadan farksızdır.

Bununla birlikte, en son genetik çalışmalar, mutasyonları alopecia ile ilgili sonuçlar veren çok sayıda gen olduğunu (en az 5) göstermiştir (SEDGEWICK John, GQ Magazine, 1999).

O halde hlihazırdaki ilerlemeleri, özellikle anti-androjenik ve damar genişletici bileşenleri göz ardı etmemek önemli görünmektedir:

Buna göre, bu hedefler üzerinde rol oynayan bitki menşeli iki aktif maddenin seçildiği SEDERMA: 5a1 ve 5a2-redktazlarının önlenmesi için oleanolik asit (Lovevly Hemsleya'nın köklerinden alınmış) ve vazodilasyon (damar genişlemesi) için apigenin (turungillerden alınmış flavonoid).

Sa ankraji konsepti üzerine hedeflenmiş bir işleme sahip bu iki yaklaşımı güçlendirmiş olan SEDERMA:

Eğer cilt içindeki saçın daha iyi "kök salmasını" garanti edebilirsek, arabağ seviyesinde, kimyasal ileticilerin değişimi içindeki bir ilerlemeyle gelişmiş adezyon (tutunum) sağlanacaktır (dermal papila – sa kökü). Bu gelişmiş arabağlaşma kalite ve anajen evre süreci üzerinde pozitif bir etkiye sahip olacaktır. Benzer şekilde, sa şetinini geşilmiş ankraji (tutunumu) ve dermis, telojen evrenin başlangıcını geciktirmelidir.

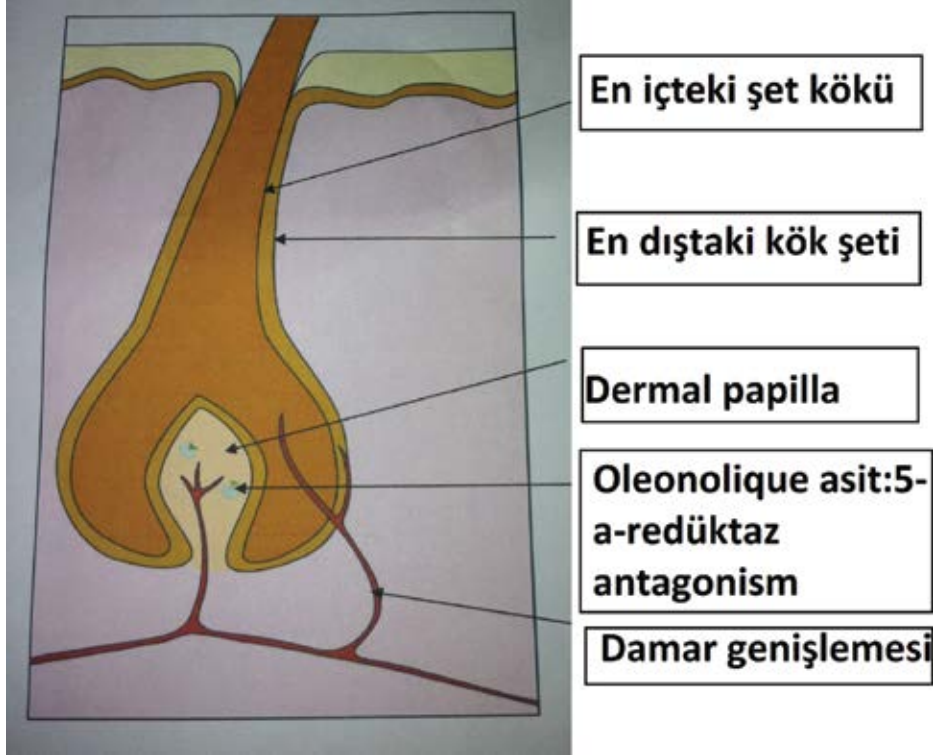
Bu amaçla, n-matrisyal eylemle donatılmış peptit bir dizi seçtik: Matrikines serisinin bir yesi (MAQUART et al, 1999) ve Vitamin H'ye (biotin) bağlı, peptit Glycyl-Hystidyl-Lysine. Bu vitaminin eksikliği, hassas alopesik (dökülmeye meyilli) saçı, cilt sarkmasını ve deri iltihabını (dermatitis) arttırır.

Bu yüzden, ikili bir matrisyal ve metabolik eylem beklentisiyle yeni bir oluşum (entiti) yaratıldı: Biotinyl-GHK, vitamin-taşıyıcı bir peptit.

Böylece, üç aktif madde yeni concept içinde kombine edildi: 5a-redüktazı önlemek için oleanolik asit, kan perfüzyonunu (serpme) arttırmak için apigenin ve glendirilmış gelişimli saçın güçlü ankraji (tutunumu) için Biotinyl-GHK.

PROCAPILTM

PROCAPILTM birleşik hedefler



Bu dosyanın konusu belli genlerin (DNA dizilimi) aktivasyonu ile onaylanmış olan hareket mekanizması yanı sıra dört aylık plasebo kontrollü bir deney sonucu, kültürler içinde, insan saç kökü eksplantlarının (doku) gelişimini ve etkiyi güçlendiren matristir.

YARARLILIK TESTİ

1. In vitro çalışmalar

1.1. Kültür edilen saç folikülleri eksplantları üzerinde çalışma

(Saç folikülü üzerinde Biotinyl-GHK'nin varlığı ve kalıcılığı

BIOALTERNATIVES çalışması)

Prensibi

Çalışma 210C'de bir nemlendirme bölgesi içinde PBS ortamda kültürlenmiş olan insan cildi eksplantları (abdominal plasti) konusunda yürütülmüştür.

Eksplantların peptitte bekletilmesini müteakip, pilial bölge çevresinin seçilen lokalizasyonunu incelemek üzere seksiyonların imünohistokimyasal çalışması yürütülmüştür.

Protokol

Saç foliküllü cilt eksplantları 18 saat 60 ppm peptit mevcudiyetinde inkübe edilir ve peptitsiz eksipiyana maruz bırakılmış olan kontrol eksplantları ile karşılaştırılır.

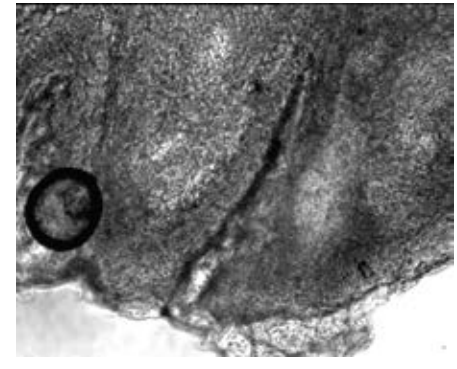
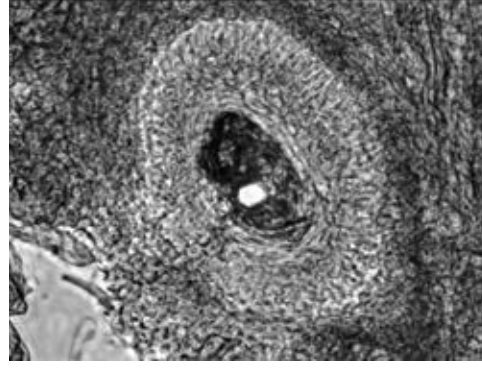
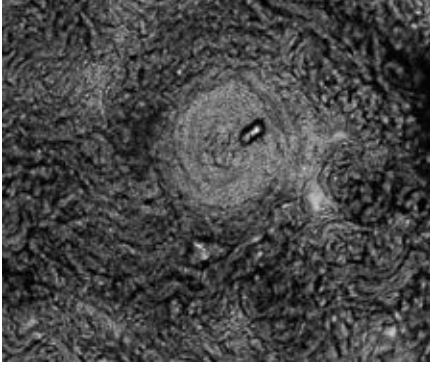
Tespitler birbirinin aynısı 3 parça üzerinde yürütülür.

18 saat sonra her bir kaynağın merkezinden 8-mm biyopsi çıkartılır ve sıvı nitrojen içinde hemen dondurulur.

14 µm kalınlığındaki seksiyonlar donan bir mikrotom (kriostat) kullanılarak yapılmış olup, sonra kurutulmuş ve sabitlenmişlerdir. Biotinyl-GHK, streptavidin peroksiti kavramış olan imüno etiketleme ile tespit edilmiştir.

Sonuçlar

Senksiyonlar peptit Biotinyl-GHK'nin açık peri – lokalizasyonunu göstermiştir.



Sonuç

Biotinyl –GHK'nin hedefi: saç folikülleri çevresinde özel varlık gösteren dayanıklı peptittir.

1.2. Kültür edilen saç folikülleri üzerinde yaşlanmayı geciktirme çalışması (BIO-EC çalışması)

Prensibi

Mikrograft transplantasyonu devresi bağlamında hazırlanmış olan çok miktarda saç folikülleri PHILPOTT et al, 1996 tarafından raporlanmış olana benzer bir ortama kültürlemek için toplanmıştır.

Protokol

Saç folikülleri hava artı (5%) CO2 atmosfer altında, 37C'de 14 gün ayrı ayrı inkübe edilmiştir.

Eksplantlar muhtelif gruplara bölünmüşlerdir: yalnızca kültür ortamındaki kontrol grubu, pozitif kontrol gurubu (pozitif referans ürünü) ve peptit biotinyl-GHK'ye maruz bırakılan test grubu.

Kültür ortamı 2 günde bir değiştirilmiştir

Genel morfoloji gün 0 (başlangıç) ve gün 14 tarihlerinde gözlemlenmiştir.

Eş zamanlı olarak, foliküllerin bir kısmı daha ileri imünohistokimyasal çalışmaları yürütmek üzere dondurulmuştur.

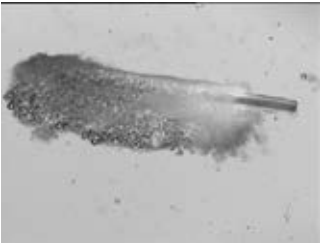
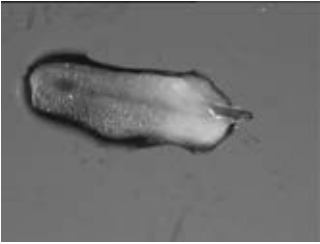
Büyüme bir dijital kamera kullanılarak D0, D3, D5, D7, D11 ve D14 tarihlerinde alınan görüntülerle izlenmiştir.

Genel morfoloji sonuçlar

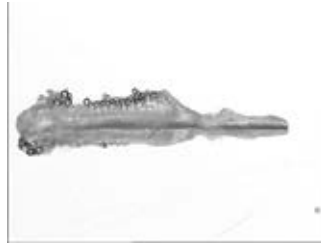
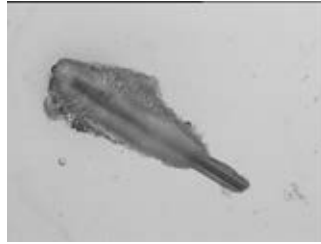
1- Saç shaftı büyümesi (Sac çıkış hızında artış)

Sac Çıkış hızındaki büyüme tespitleri sac shaftının dışarıda kalan kısmı üzerinden yapılmıştır. (excluding the lower part of the hair bulb).

Kontrol folikülünün büyümesi
T0 ile T14 günleri arasında



Biotinyl-GHK'ya maruz bırakılan
folikülün büyümesi,
T0 ile T14 günleri arasında



Elde edilen sonuçlar aşağıdaki grafikte raporlanmaktadır:

Sonuç

2 ppm peptit etkisi (yani % 1 Procapil™ Complex) altında kontrol gurubundan % 58 daha fazla büyüme elde edilmiş olup, 2 ppm Minoxidil®'nin (10 µM) mevcudiyetindeki benzer bir büyüme gözlenmiştir. 5 ppm Biotinyl-GHK (yani % 2,5 Procapil™ Complex) ile büyüme kontrolden % 121 daha fazla olmuştur.

2.Kök kını üzeride yaşlanma geciktirici faaliyet

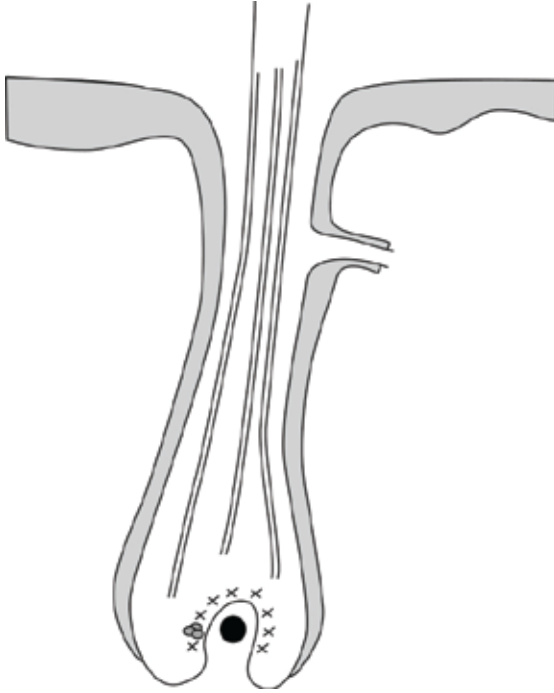
Prensibi

Hücre cogalma faaliyetini kanıtlamak için mitotic markör Ki67 kullanılmıştır.

Protokol

D0 ve D14 tarihlerinde dondurulan mikrotom kısımları, peroksidaz bağlı anti-Ki67 antikoruna maruz bırakılmıştır.

Kısımlar üzerinde cogalan hücreler koyu kahverengi boyanmışlardır. Mikroskop altında saç şaftının kök kınının daha alt kısmında bir sayım yapılmıştır. Ki67 markörünün gösterdiği bütün hücreler sayılmıştır. (bölge 1).



Sonuçlar

Kültürün 14. gününde kontrol sac kokunde mitotik keratinositlerde azalma gorulmustur. Bu durum hucre yaslanmasini yansitir.

Minoxidil® (BOYERA et al. tarafından 1997 yılında raporlandığı gibi) 0.3 µM biotinyl-GHK'nin ve yaklaşık 1 µM (5ppm) biotinyl-GHK'nin yaptığı gibi poliferatif faaliyetini muhafaza etmiştir. Biotinyl-GHK ile elde edilen etki 10 µM (2ppm) Minoxidil ® konsantrasyonunun 10 ile 30 kat altındaki konsantrasyonlarda elde edilmiş olmasına rağmen çok üstündür.

3.Kök kın ve dermal papilla bölgesinde bulunan bağlayıcı proteinlerin miktarında artış

Prensibi

Dermoepidermal kavşağın kalitesi keratinositlerin ilk bazal katman dayanağı üzerindeki ve yapışacak oldukları laminin 5 ve kolajen IV cinsinden zengin çok yoğun bazal laminanın formasyonuna bağlıdır.

Dermoepidermal kavşak

a) Kültürlemeden 14 gün sonra morfolojik gözlem kontrolün dış kın tarafında düzleşen ve bazal laminasını kaybeden bir dermoepidermal kavşak göstermiştir.

Aksine, saç folikülü biotinyl-GHK ile 14 gün inkübe edildiği zaman bazal lamina kalmış ve sinüzoidal karakterini göstererek açıkça çizilmiştir. Bu iki bulgu güçle yapışan ve yaşayan dermoepidermal kavşağı yansıtır.

Kontrol: 14 days

Tedavi Edilen: 14 days

b) Laminin 5 ve kolajen IV bazal membranın, epiderm ve dermisen eklenme bölgesinin oluşumunda ve saçların olması durumunda ise kök kını ile dermis arasındaki büyük öneme sahip iki proteoglikandır. Matris unsurları imüno etiketleme ile histolojik kısımlar üzerinden tespit edilebilirler.

Kültürlü saç foliküllerini kullanarak D0 tarihinde yapılmış olan kontrol kısımları ile gösterilmiş olduğu üzer laminin 5 ve kolajen IV ayrıca dermal papillada güçlü şekilde mevcuttur (Jahoda et al.1992).

Protocol

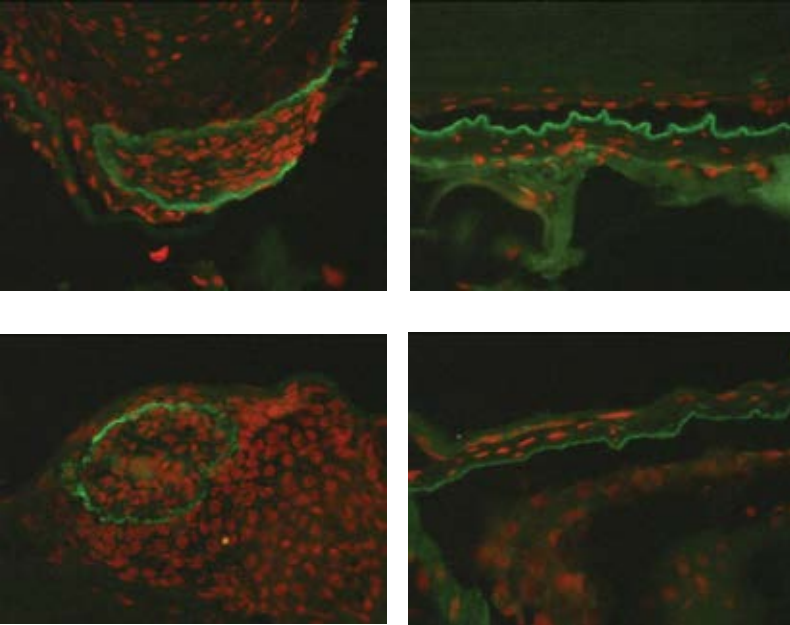
D0 ve D14 örneklerinden dondurulan mikrotom kısımlar laminine 5(Tebu) ve kolajene IV (Cliniscience) özgü flüoresan antikorlara maruz bırakılmışlardır. Elde edilen boyama flüoresan yeşil olmuştur.

Gözlemler kil soğanının altındaki ve üstündeki folikülün iç bölgesi üzerinde yürütülmüştür (bölgeler 1 ve 2, cf. Şema sayfası 15)

Sonuçlar

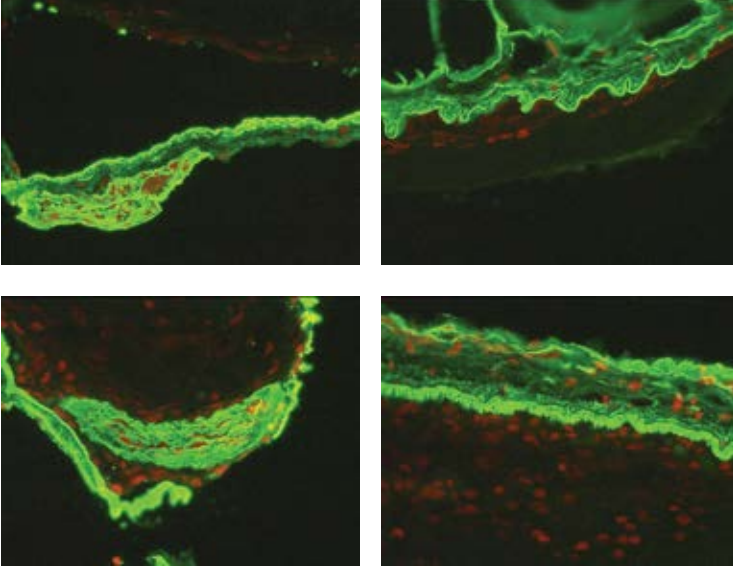
a) Laminin 5

Bu bizi D14'te muhtelif ürünlerin mevcudiyetinde laminin 5 kaybını incelemeye götürmüştür.



b) Kolajen IV

Bu bizi D14'te muhtelif ürünlerin mevcudiyetinde kolajen IV kaybını incelemeye götürmüştür.



Sonuç

Kök kınının ve dermal papillanın, kolajen IV'ün ve laminin 5 'in bileşenleri üzerinde peptit biotinyl-GHK'nin koruyucu ve onarıcı etkileri açıkça gösterilmiştir. 14 gün boyunca kültürlenmiş olan saç folikülü eksplantları üzerinde Biotinyl-GHK nin etkisi (Minoxidil Konsantrasyonundan 30 kat daha düşük olmasına rağmen) Minoxidile göre daha belirgin olmuştur.

Genel morfoloji açısından biotinyl-GHK canlı bir kök kınının (mitosis, Ki67) muhafaza edilmesiyle ve dermis üzerine ankorajdan sorumlu olan proteinlerin (kolajen IV ve laminin

5) yapışmasından sorumlu yapılanmaları arttırmak olan saç folikülü keratinositleri (14 günlük kültür) üzerinde çok belirgin bir yaşlanma geciktirme faaliyetini sağlamıştır.

1.3. Procapil™ ile gen aktivasyonu (BIOALTERNATIVES çalışması)

Prensibi

DNA dizisi çalışması hücre fonksiyonları ile ilgili yararları için seçilen 600 genden oluşan bir paneli kullanır. Çalışma yukarı-regüle ve aşağı-regüle markör genleri göstermiş olduğundan keratinosit ve fibroblast popülasyon üzerinde kozmetik etken maddesinin etkisinin tanımlanmasını olanaklı kılar

Protokol

DNA dizisi çalışması SkinEthic® yeniden oluşturulmuş insan epiderm örneklerinin Procapil™'nin (3 etken madde içeren kompleks: biotinyl-GHK, oleanolik asit ve apijenin) mevcudiyetinde inkübe edilmesiyle yapılmıştır. İnkübasyon 18 saat sürmüştür. Hücrelerde mevcut mRNA DNA sağlamak için ters yönlü kaydedilmiş ve kontrol kültürlerine karşı okunaklı bir sinyal elde etmek için büyütülmüştür (RT-PCR). Sonuçtaki görüntü Procapil™ tarafından yukarı regüle edilmiş olan veya aşağı regüle edilmiş olan genlerin 18 saat sonraki görüntülerinden bir enstantanedir..

Sonuçlar

Takip eden sayfalardaki tablolar kontrole karşı belirginliği dikkate alan sonuçları gösterir: en az % 30 pozitif veya negatif değişiklik.

İlgili çeşitli hücrelerde daha küçük değişiklikler(% 20 ile 30 arasında) gözlemlendiği zaman bu değişiklikler bir ölçüde mekanik önemi olan değişiklikler olarak dikkate alınmıştır.

Kontrolle karşı yukarı regüle genler (100%)

Ve protein kodlamaları:

Procipil™'ye maruz kalma altında gen ifadesindeki değişiklik	%
--	---

Kompleks proteinlerin yapışması

Desmozomal proteins 1&3 (Dezmogleinler)	135% / 138%
---	-------------

Dezmokollin 1	146%
---------------	------

Fibronektin reseptörü  -altünitesi	134%
---	------

Vimentin	138%
----------	------

Laminin bağlama proteini	146%
--------------------------	------

Integrin  1 ve  2	134% / 144%
---	-------------

Antioxidan enzimler

Thioredoxin peroksidazları (TDPX2 ve A0372)	152 and 174%
---	--------------

SOD (mitokondriyal & sitosolik)	150 and 169%
---------------------------------	--------------

Metalotiyoneinler MTH ve HMT	188 and 190%
------------------------------	--------------


CYP b-redaktaz	160%
----------------	------

Stres proteinleri

HSP 27	164%
--------	------

HSP 90	139%
--------	------

Anti-inflamatuar proteinler

Interferon  antagonist 135%

Hücre metabolizması enzimleri

Mitokondrial trifonksiyonel protein ve Acyl CoA prekürsörü 123 and 128%

Ornitin dekarboksilaz 132%

Glutamin sentetaz 136%

Acyl CoA transferaz 137%

Izocitrate dehidrojenaz 189%

iNOS 143%

NADP izositrat dehidrojenaz

Proliferasyon / ayrılma markörleri

Proliferasyon hücresi nükleer antijeni (PCNA) 191%

Sitokeratinler 10, 14 ve 16 154 / 150 / 144%


Steroid reseptör ortak aktivatörü 160%

Kontrolle karşı aşağı regüle genler (100%)

Ve protein kodlamaları:

Procapil™'ye maruz kalma altında gen ifadesindeki değişiklik %


Pro-inflamatuar proteinler

Interferon  reseptör -57%

Anjiyojenik ve matris-yeniden modelleme faktörleri

Vitronektin -52%

TIMP1/TIMP2 -43% / -24%

Antikimotripsin  1 -43%

Lisil hidroksilazlar 1&2 -50% / -29%

Heperan sulfat proteoglikan -40%

Kolajen 1 alt ünitesi -46%

Hücre poliferasyonu regülasyonu

Retinoik bağlama proteinleri CRABP1/CRABP2 -34% / -63%

Vit. D3 reseptörü -40%

Yorum

Yukarıya doğru regüle edilen hücre metabolizması enzimleriyle (enzime bağlı olarak % 123 ile %189 arasında) yüksek büyüme faaliyetine yönelmiş olan bir hücre profilini yansıtır..

Hücre poliferasyonu nükleer antijeni (PCNA), steroid reseptör ortak-aktivatörleri ve 10, 14 ve 16 sayılı (poliferasyon ve ayrılma) sitokeratinleri gibi hücre poliferasyonunun markörleri pro-ayrım faaliyetini göstererek (Jonak,2002) belirgin şekilde ancak ayrıca protein HSP27 (% 164)'le ilgili olarak yukarı regüle olmuşlardır. Ayrım bazı yapıştırma proteinlerinde bir artış eşlik etmiştir: hücrenin bazal laminaya (laminin bağlama proteini, vimentin, integrin α ve β) bağlanmasını kapsayan hücreler ve yapışmayı ve hücre katmanlarındaki keratinositlerin (dezmogleinler, dezmokolinler) yayılmasını olanaklı kılanlar ve son olarak çeviren dermise (dezmogleinler, dezmokolinler) ankorajı sağlayanlar arasında bağlantıyı olanaklı kılanlar.

Her ikisinin güçlü anti inflamatuvar bir katkı yaptığı aşağı regülasyonlu artan interferon antagonisti (+% 135) ile birlikte gen interferon reseptörünün azalan ifadesiyle (-% 57) yansıtılmıştır.

Bu nedenle, hücre poliferasyonu yolaklarının bu yolaklar üzerindeki negatif etkisiyle faktörlerde bir azalmayla yoğunlaşırken matris yeniden modellenmesinin ve anjiyojenesisin kapsamış olduğu genler geçici olarak aşağı regüledirler: CRABP $\frac{1}{2}$ (sitoplazmik retinotik asit bağlama proteinleri) ve vitamin D3 reseptörü (hücre poliferasyonu ve ayrımı için transkripsiyon faktörü).

Markörlerin Yitilikleri:

Dezmogleinler keratinosit arası yapışma için vazgeçilmez olan ve saçın dış kök kınının formasyonuna katkıda bulunan yapıştırma proteinleridir (Garrod et al., 2002; Nuber et al., 1996).

Bunlar ayrıca dermal yapıların kök kınını sabitlemeyi de kapsarlar: dezmoglein genleri öldürülmüş olan farenin telojen saçlarını prematür olarak kaybeder. (Hanakawa Y, 2002).

Vimentin epitelyal doku ve saçın morfojenlerinde bir rol oynayan mesenkima (dermis) keratinositler ile sentezlenmiş olan matristen oluşur (TAMIOLAKIS et al., 2001).

Sitokeratinler 10 (ayrım), 14 ve 16 (saçın morfojen ve keratinosit poliferasyonu) ve metabolik enzimler ve hücre mitozu (poliferasyon hücresi nükleer antijen) markörleri yeni dokuların morfojeni doğrultusunda keratinositik hiperaktiviteyi karakterize ederler.

Retinoik asit için vitamin D3 reseptörünün ve reseptörlerinin (CRABP 1/2) geçişi olarak aşağı regüle olduğunu not etmek ilginçtir: Transkripsiyon inhibisyonu baştan sentez teşvikini, hücre poliferasyonunu (Krohn et al., 2003) ve foliküler idameyi Billoni,1997) kaldırır.

Reseptör faaliyeti aynı zamanda dihidrotestosteronun (DHT) androjenleri gibi steroidlere de bağlı olduklarından, reseptörün düşük seviye ifadesi ayrıca hormonal aktivasyonun yokluğunu yansıtır.

Retinoid, steroid ve vitamin D3 reseptörleri arasında (ve ortak efektörlerinin mevcudiyetinde veya yokluğunda) hafif etkileşimler vardır. Bu reseptörler bundan ötürü saç folikülü morfojeninde önemi faktörlerdir.

Bu nedenle Procapil™'nin etkisi saç morfojeni ve büyümesi için esas olan faktörleri kapsar.

Yukarı regüle muhtelif genler arasında peptit biotinyl-GHK (gene yapıştırma ve poliferasyonu), biyotin (güçlü mitokondriyal faaliyet) ve oleanolik asit (CRABP 1 ve 2'nin ve vitamin D3 yolaklarının deaktivasyonu) patenttir.

İn vitro veriler hakkında sonuç

Sentetik epiderm üzerinde DNA dizisi çalışması ve kültürlenmiş insan saçı eksplantları hakkındaki morfolojik çalışma ile üretilen verilerin kayda değer tutarlılığı aşağıdakileri not etmeye değerdir.

Ki67 ile yüksek yaşlanma geciktirme faaliyeti, artan genel morfoloji (kök kını ve papilla), antioksidan selüler enzimler ve poliferasyonun PCNA markörleri faaliyete geçmiştir.

Yapıştırma kompleksinin yüksek protein sentezlerinin yüksek yeniden başlaması (kolajen IV, laminin 5 , vimentin, dezmogleinler ve dezmokolinler).

Hücre metabolizmasının (mitokondriyal enzimler) ve büyüme aktivasyonunun (saç şaftı ve sitokeratinler 10, 1 ve 16) belirgin uyarılması.

Yukarıdaki veriler saç morfojenini teşvik eden ve kök kınının dermise ankorajının güçlendiren bir ürünün profili ile tutarlıdır.

Ürün dayanıklı olup, özellikle saçta yerleştirilmiştir (folikül boyunca imüno- lokalizasyon, çevre dokuda yok).

2.In vivo çalışma

Dört aylık Plasebo kontrollü klinik deney
(Laboratoires DERMSCAN).

Prensibi

Sac dokulmesiproblemi erkeklerde daha fazla gorulduğunden, sözkonusu sorunun mevcut olduğu erkek deneklerle bir çalışma başlatılmıştır. Bir Telojeni dönemi tamamen kaplamak için 4 aylık bir çalışma süresi seçilmiştir.

Anajen dönemdeki saç miktarı ve telojen dönemdeki sac miktarının A/T oranın zaman içinde saptanması ve gözlemlenmesi için videotrikogram metodu kullanılmıştır.

Protokol

- Dahil edilme kriteri

Yaşları 18'le 50 arasında değişen Kafkasya orijinli ve saçlarının % 20'den fazlasının telojen donemde olduğu tesbir edilen otuzbeş erkek denek dahil edilmiştir.

- Hariçte bırakma kriteri

Vertekste gri saç

Baş derisinde hastalıklar

Çalışmadan önceki 6 ay içindeki kortikosteroidleri, imünosüresanları veya retinoidleri veya bir hafta içinde anti-inflamatuarların alınması.

Son 3 ay içinde Minoxidil®'nin yerel uygulaması veya topikal veya oral olarak alınarak veya tropik saç tedavisi şeklinde herhangi bir yerel 'saç kaybı önleyicisi' tedavisi.

Baş cildinin topikal veya oral (çalışma başlamadan önce 4 hafta içinde günlük friksiyon olarak anti-seboreik, kepek önleyici) tedavisi.

Çalışma sırasında diyet veya egzersiz alışkanlıklarının değiştirilmesi.

Alkol ve tütünün aşırı kullanımı.

- Ürün Uygulama

Ürün veya plasebo yumuşak masaj kullanılarak baş cildine günde 2 kez uygulanmıştır.

Procapil™ Complex Complex'i renksiz likit görünümlü olup % 3 oranında sulandırılmış alkol losyonu olarak formüle edilmiştir

Uygunluk / Güvenlik

Uygunluk ve güvenlik kontrolleri tedavinin 4., 8. ve 12. haftalarında yapılmıştır.

Baslangicta (GUN 0) ve 4. Ayda dermatolog tarafından baş cildinin fiziki bir muayenesi yapılmış ve denek mülakatı ile güvenlik değerlendirilmiştir.

Videotrikogram

Kullanılmış olan sistem bir dijital görüntü alma sistemine bağlanmış fiber optikli mobil 25 x objektifin monte edilmiş olduğu MORITEX SCOPEMAN ® MS-500 marka bir videomikroskoptur.

Görüntüler Laboratories DERMSCAN'ın geliştirmiş olduğu COUNT-HAIR ® programı ile analiz edilmiştir.

Gun0'da ve 4 ay sonra önceden isaretlenen traslı bölgeden goruntu alınmıştır. (ortalama olarak, yaklaşık 1cm2/200 saç) bölgesinde yapılmıştır.

İzlenen parametreler saçın boyu ve büyüme oranı ve anajen aşamadaki saçların miktarı ve telojen aşamadaki saçları miktarı olmuştur.

Saç Örnekleri

Morfolojik analiz ve kolajen IV ve laminin 5'in imüno etiketlemesi.

TO'da ve çalışmanın sonunda cımbızlar kullanılarak alopesik bölgenin sınırından 24 adet saç örneklenmiştir.

tedavi gurubundaki 6 denek ve plasebo gurubundaki 6 kişi örneklemeye tabi tutulmuştur.

Saçlar, analiz için BIO-EC'e gönderilmeden önce (12 adet saç) Bouin'in sıvısı içinde sabitlenmiş veya (12 adet saç) hemen dondurulmuştur.

Sonuçlar

a)Klinik deneyler

Çalışmaya dahil edilen 35 denekten 18'i Procapil™ gurubuna (37 ± 2 yıl) ve 17'si (38 ± 1 yıl) placebo grubuna tahsis edilmiştir. Procapil™ ve plasebo gruplarına tahsis edilen denekler rastgele seçilmişlerdir.

Güvenlik

Procapil complex™ tüm denekler tarafından çok iyi tolere edilmiştir.

Videotrikogram

Klinik çalışmalar muhtelif değerlendirme kriterleri kullanarak saç derisi sağlığında bir tedavinin etkilerini ölçmeyi amaçlar.. Saç yoğunluğu (saç adedi/cm2) büyüme/yeniden büyüme iddiasındaki ürünler için kullanılır. Anajen ve telojen aşamalardaki (büyüme veya kayıp) saç yüzdeleriyle birlikte bu yüzdelerin oranları daha çok saç derisi üzerindeki saç ankorajının ve saç canlılığının (hala) mevcudiyetine uyarlanır. Bu sonuncu parametreler söz konusu nedenle çalışma için seçilmişlerdir.

Anajen / telojen oranı

Aşağıdaki tablo baslangıçta ve 4 ay sonraki anajen/telojen oranının, 11 aylsüre ile oral yolla kullanılan Finasteride® için yayınlanan verilerle (van Netse et al. 2000) kıyaslamasını gösterir.

RESTOREX Procapil™ tedavisinin 4 ay sonrasında gönüllüler anajen aşama saçlarının oranında TO'la karşılaştırıldığında kayda değer üstünlükte (+% 10, p < 0.05) belirgin bir iyileşme göstermişlerdir. Plasebo faal değildir. Oral yolla alınan Finasteride® için yayınlanan verilerle kıyaslandığında Procapil™'in kayda değer bir aktivitesinin olduğunu gösterir.

Nitekim 5 ay sonra Finasteride® için A/T oranında (TO ile kıyaslanınca) ılımlı bir farklılaşma, 11 ay sonra % 33'e ulaşan farklılaşma raporlanmaktadır.

Procapil™ gurubunda deneklerin % 67'si A/T oranında bir gelişme göstermişlerdir ve gelişen 12 adet denekten 3'ü için A/T artışı (yeni sac miktarında artış) sırasıyla % 31.2, 33.5 ve 46.3 olmuştur. Aksine, plasebo gurubunda anajen saçlarda bir azalma yönünde bir eğilim olmuştur

b) 4 ay sonra sacda gözlemlenen morfolojik değişimler

4 ay sonra gruplar arasında sacın yapısındaki farklılıklar telojen saç (çekerek koparılan örnekleme) kullanılarak seri olarak gözlemlenmiştir..

4 ay sonraki noktada plaseboya karşı, Procapil™'nin farklılıkları

The Procapil™ uygulan grupta guclu, yapılı sac soganın gelistigi gözlemlendi.

Bunun ötesinde Procapil™ ile tedavi edilen saç iyi ayrılmış hücre bazlı, iç saç shaftıyla ilgili olarak çok net sabitlenmiş kök kınları ile birlikte ayrıca çok iyi bir kalitede dış ara yüzey (dermis içine ankoraj) gösterir.

Anajen ve telojen sacalar için T0 ile T4 ay, arasındaki fark

Uygulama yapılan deneklerden birinde T0 ile T4 ay arasında göze çarpan değişiklikler gözlenmiştir.

Aşağıda gösterildiği üzere telojen saçın sogan bölgesi çok belirgin şekilde iyileşmiştir:

Anajen saçların kök kınları da kalınlaşarak ve açıkça tanımlanan hücre bazlarıyla iyileşmiştir:

Procapil™ gurubunda kök kını saçın dış tarafının üzerine optimum dermal-epidermal yapışmayı sağlayarak mükemmel yapılanmış bazal lamina ile yüksek kalitede gözlenmiştir.

İç kök kını tarafı üzerinde ise saç shaftlı ankoraj bölgeleri gözlenmiştir.

Aksine plasebo gurubunda bu iki bölge çok yapılanmış değildir.

Kolajen IV ve laminin 5 markörleri ile ilgili imünoflüoransan bulgular önceki bulguları takviye etmiştir:

Procapil™ gurubundaki telojen ampullerde daha büyük laminin 5 flüoresan kök kını gözlenmiştir.

Ayrıca telojen ampulün kolajen IV etiketlenmesi de Procapil™ gurubunda daha belirgin olmuştur:

In vivo veriler üzerinden sonuç

Tam bir telojen aşamayı kapsayan 4 aylık klinik deneyin sonuçları Procapil™ ile tedavi edilen grupta oral Finastéride® tedaisi uygulanan tedaviye göre anajen/telojen oranında büyük bir artış göstermiştir.

Bu bulgu Procapil™ ve Plasebo guruplarındaki birkaç denekten alınmış olan saç örnekleri konusundaki morfolojik bulgularla mükemmel şekilde aynı doğrultudadır:

Telojen saç üzerinde dermise iyi ankoraj için yapılanmış ve düzenli bir bazal lamina ile mükemmel bir kök kınının yeniden oluşumu yapılanmıştır. Bu yapıştırma kompleks proteinlerinin: kolajen IV'ün ve laminin 5'indaha büyük mevcudiyeti ile teyit edilmiştir. İç kök kını saç shaftı ve kın arasındaki yapışma motiflerini göstermiştir.

