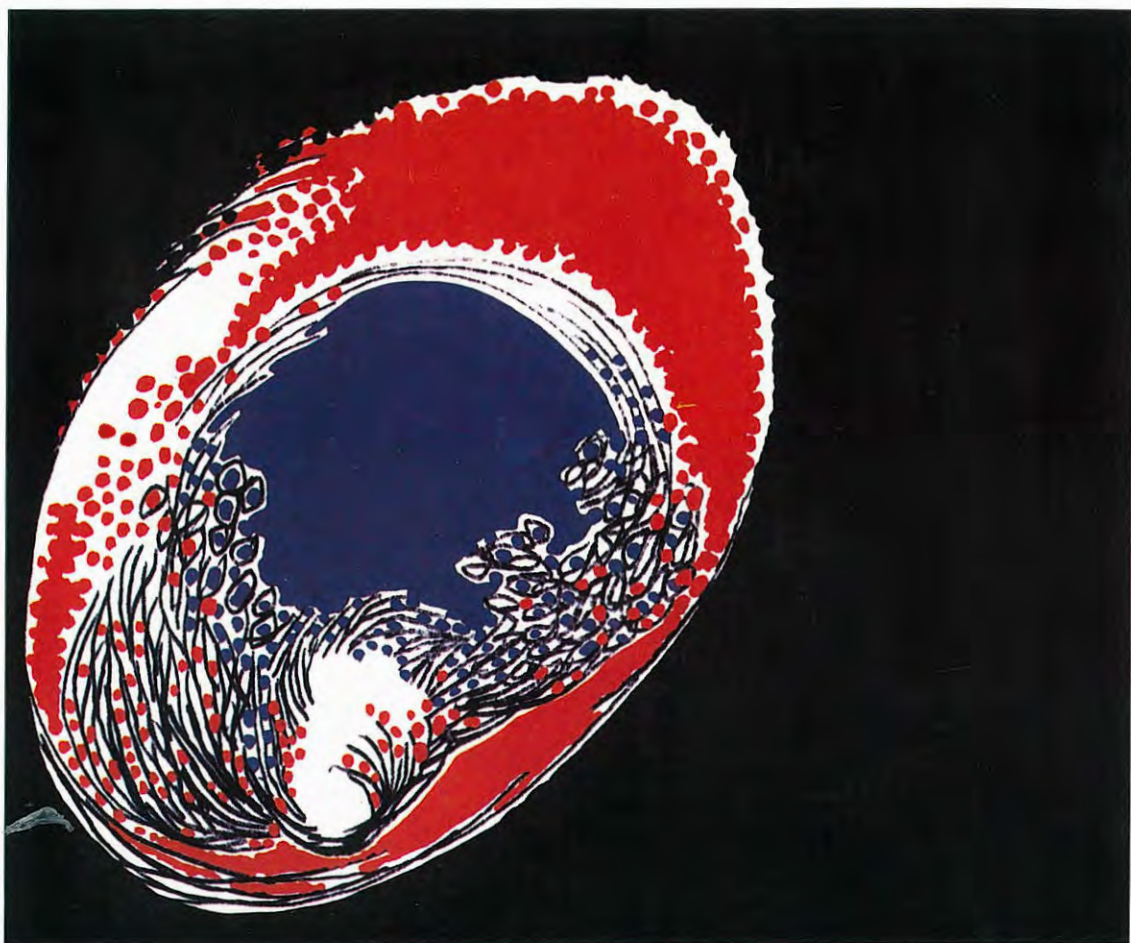


# Journal of Applied Cosmetology 4



Rivista trimestrale di Dermatologia cosmetologica  
Quarterly Review of Cosmetological Dermatology

Volume 2 - Number 4  
September/December 1984  
ISSN 0392-8543 Sped. abb. post. gr. IV°/70

INTERNATIONAL  
EDIZIONE

# PROTEO<sup>®</sup> GEL

**NN**  
mavi

sferule di gelatina  
da 500 mg

# TIOGEL<sup>®</sup>

sferule di L-cistina  
da 200 mg



Per documentazione tecnica e campioni medici:

Mavi s.r.l. - Via Filippo Bernardini, 22 - 00165 Roma (Italy) - Tel. (06) 63.84.348



# Corneometer CM 420

Uno strumento per l'esatta misurazione scientifica  
del grado di umidità della pelle.



Per la dermatologia, la cosmetologia, la ricerca clinica.  
L'alternativa ai metodi di test tradizionali.  
Semplice, sicuro, preciso, fidato ed economico.

Il risultato di una lunga esperienza.  
Indispensabile per la clinica, l'ambulatorio e la ricerca.

**g. f. secchi**

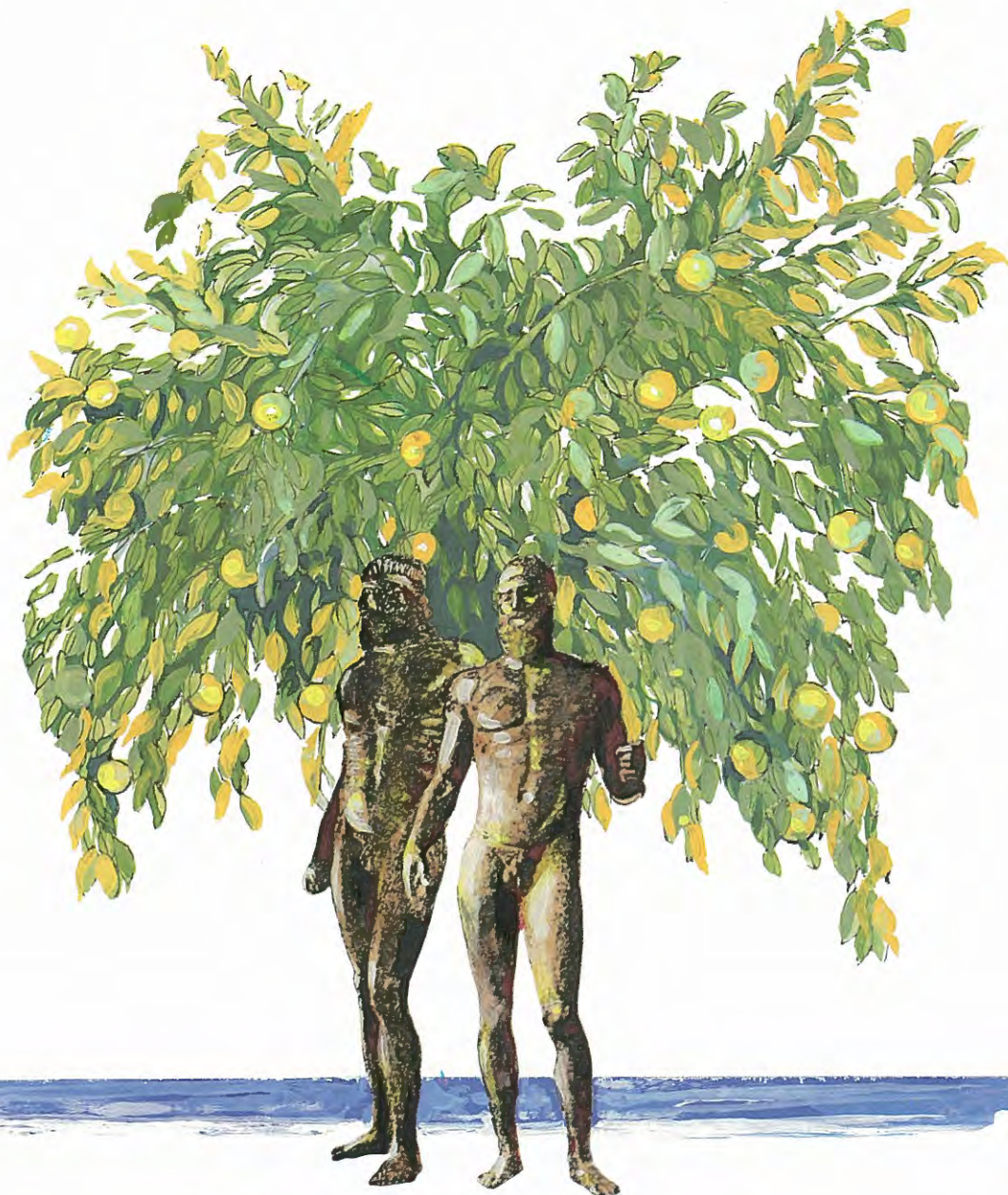
rappresentanze industriali  
commercio prodotti chimici

via clerici, 10 - I 22036 erba (co)  
telefoni: 031-644033 uff. - 642631 ab.  
telex: 380090 comoexp/secchi

Via F. Bernardino 22  
tel. (06) 6378788  
00165 Roma

**INTERNATIONAL  
EDIEMME**





*from calabria-italy  
the natural bergamot oil  
and  
the natural bergamot oil  
furocoumarins free*

**CONSORZIO DEL BERGAMOTTO**  
Via T. Campanella 40/A 89100 REGGIO CALABRIA

telegrammi: BERGAMOTTO  
Code ABC 6th ed.  
telefoni: (0965) 24042 - 24043



# Rivista trimestrale di Dermatologia cosmetologica Quarterly Review of Cosmetological Dermatology

## EDITOR

P. MORGANTI  
Ph. D.  
Professor of COSMETIC CHEMISTRY  
and APPLIED COSMETOLOGY  
UNIVERSITY SCHOOL for COSMETOLOGISTS  
CATHOLIC UNIVERSITY of ROME  
Via F. Bernardini, 22 - 00165 Roma (Italy)

## ASSOCIATE EDITOR

S.D. RANDAZZO  
M. D.  
Professor of EXPERIMENTAL DERMATOLOGY  
UNIVERSITY OF CATANIA  
Via Iacona, 7 - 95124 Catania (Italy)

## ASSISTANT EDITORS

C. INTROINI  
Sc.D.  
UNIPRO SCIENTIFIC SECRETARY  
V.le Premuda, 38/A - 20129 Milano (Italy)

M.B. JAMES  
M. D.  
JAMES CLINIC  
128 E Front Street Perrysburg (Ohio) USA

## EDITORIAL ADVISORY BOARD

- |                  |                                                                                         |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| P. AGACHE        | MD, Prof. of Dermat. Centre Hosp. Regional de Besançon (F)                              |
| G. BELLOMONTE    | CChem, Prof. of Chem., Food Depart. Ist. Sup. Sanità - Roma (I)                         |
| W.F. BERGFELD    | MD, FACP Cleveland Clinic Ohio (USA)                                                    |
| B. BERRA         | DSc, Prof. of Biol. Chem. Univ. of Milano (I)                                           |
| R. CAPUTO        | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Milano (I)                          |
| D. CERIMELE      | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Sassari (I)                         |
| E. CHIACCHIERINI | CChem, Prof. and Chairman, Depart. Techn. of Commerce Univ. of Roma (I)                 |
| J. COTTE         | DSc, Prof. of Cosmet. IPIL Lyon (F)                                                     |
| M.A. DINA        | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Pathol. Anat. Catholic. Univ. of Roma (I)            |
| F.J.G. EBLING    | DSc, PhD, Prof. of Zoology Univ. of Sheffield (GB)                                      |
| A. FIDANZA       | DSc, Prof. and Chairman, Depart. of Physiol. Univ. of Roma (I)                          |
| D. GRAFNETTER    | PhD, Inst. for Clinical and Exp. Medicine Prague (CS)                                   |
| J.A. GRAHAM      | B.Sc., PhD, Dept. Dermatology Univ. of Pennsylvania (USA)                               |
| B. GUARNERI      | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Messina (I)                         |
| A.J. JOUHAR      | M.B., MRSC Beaconsfield (GB)                                                            |
| F.H. KEMPER      | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Pharmacol. and Tox. Univ. Munster (D)                |
| A.M. KLIGMAN     | MD, PhD, Prof. of Dermatol. Univ. of Pennsylvania Philadelphia (USA)                    |
| N. LOPRIENO      | DSc, Prof. of Genetics Univ. of Pisa (I)                                                |
| S. MADDIN        | MD, ERCP Clin. Prof. Dermatol. Div Dermat. Univ. Br. Columbia, Vancouver (C)            |
| G. MAZZONE       | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Pharmacol. and Tox. Univ. of Catania (I)             |
| C.L. MENEGHINI   | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Bari (I)                            |
| G. MICALI        | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Plastic Surgery Univ. of Catania (I)                 |
| W. MONTAGNA      | DSc, Prof. of Dermat. Oregon Health Science University (USA)                            |
| L. MUSCARDIN     | MD, Prof. of Dermat. Centre Hosp. Regional IDI Roma (I)                                 |
| N. ORENTREICH    | MD, Clin. Assoc. Prof. of Dermat. New York (USA)                                        |
| E. PANCONESI     | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Firenze (I)                         |
| R. PAOLETTI      | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Pharmacol. and Tox. Univ. of Milano (I)              |
| W.E. PARISH      | MA, PhD, BVSc, Head of Environmental Safety Division, Unilever Research Sharnbrook (GB) |
| G. PROSERPIO     | CChem, Prof. Inc. of Cosmet. Chem. Univ. of Torino (I)                                  |
| L. PUGLISI       | DSc, Prof. of Pharmacognosy Univ. of Milano (I)                                         |
| V. QUERCIA       | CChem, Prof. of Chem., Depart. of Pharm. Chem. Ist. Sup. Sanità Roma (I)                |
| W. RAAB          | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Wien (A)                            |
| G. RABBIOSI      | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Pavia (I)                           |
| A. REBORA        | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Genova (I)                          |
| A. RIBUFFO       | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Roma (I)                            |
| G. SALVATORE     | CChem, Depart. of Toxicol. Ist. Sup. Sanità Roma (I)                                    |
| A. SANNA         | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Microbiol. Catholic. Univ. of Roma (I)               |
| P. SANTOIANNI    | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Univ. of Napoli (I)                          |
| H. SCHAEFER      | MD, PhD, Prof. and Chairman, Depart. of Pharmacol. CIRD Sophia-Antipolis Valbonne (F)   |
| F. SERRI         | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermat. Catholic Univ. of Roma (I)                   |
| A. SERTOLI       | MD, Assoc. Prof. of Allergic and Occupational Dermat. Univ. of Firenze (I)              |
| A. STAMMATI      | DSc, Depart. of Toxicol. Ist. Sup. Sanità Roma (I)                                      |
| H. TRONNIER      | MD, Prof. and Chairman, Depart. of Dermatol. Stadtischen Kliniken of Dortmund (D)       |
| V. VALKOVIC      | CChem, Prof. of Physic Ruder Bosković Inst. of Zagreb (Y)                               |
| J.B. WILKINSON   | MA, BSc, CChem, FRSc, Hon. Visit. Prof. Univ. of Surrey (GB)                            |

## RESEARCH ASSOCIATES

- |                 |                        |
|-----------------|------------------------|
| A. CARUSO       | M.D. (Catania - Italy) |
| L. CELLENO      | M.D. (Roma - Italy)    |
| M. CRISTOFOLINI | M.D. (Trento - Italy)  |
| F. ZAPPALÀ      | M.D. (Catania - Italy) |

## GENERAL INFORMATION

The JOURNAL OF APPLIED COSMETOLOGY is an international journal devoted to publishing original papers, reviews and other material which represent a useful contribution to research on the skin and on cosmetics.

It is aimed at cosmetic chemists, dermatologists, microbiologists, pharmacists, experimental biologists, toxicologists, plastic surgeons, and all other scientists working on products which will come into contact with the skin and its appendages.

The Journal is published quarterly both in English and Italian. It is distributed to cosmetic chemists, dermatologists, plastic surgeons, medical and pharmaceutical schools, medical libraries, selected hospitals and research institutions throughout the world, and by subscription to any other interested individuals or organizations.

Statements and opinions expressed are personal to the respective contributors and are not necessarily endorsed by the Editor(s), Advisers, Publishers or Distributors of this Journal.

## COPYRIGHT

Submitted material must be the original work of the author(s) and must not have been submitted for publication elsewhere.

By submitting a manuscript, the authors agree that the copyright for their articles is transferred to the publisher if and when the article is accepted for publication. None of the content of this publication may be reproduced in whole or in part, translated, stored in a retrieval system, or transmitted or distributed in any form or by any means (electronic, mechanical, photocopy, recording or otherwise) without the prior written permission of the Publishers.

## Sections of Journal

The following sections will be features of the Journal:

*Original Laboratory Studies:* descriptions of original investigative laboratory research in cosmetics and related areas.

*Special Reports:* Items of special interest to the readers, including reports on meetings, societies, legislation, etc.

*General Articles:* scientific articles of general interest to our readers will be considered for publication. These articles should be concerned with newer developments in such related fields as dermatology, biology, toxicology, etc.

*Short Communications:* the length should not exceed 5 typewritten pages with not more than 3 figures included. Headings ("Materials", "Discussion", etc.) as well as Summaries are to be omitted. If accepted, these submission will appear in print in a very short time.

*Letter to the Editor:* comments on Journal articles are invited as well as brief contributions on any aspects of cosmetic science. Letters may include figures, and/or references, but brevity is necessary.

*Guest Editorials:* concise, authoritative, substantiated commentary on specific topics of contemporary interest.

*Book Reviews:* books and monographs (domestic and foreign) will be reviewed depending on their interest and value to subscribers. Send material for review to the Editor, Dr P. Morganti. No such material will be returned.

*Address:* all papers should be submitted to:  
Dr. P. Morganti  
INTERNATIONAL EDIEMME  
Via F. Bernardini, 22  
00165 ROME - Italy  
Tel. 06/637.87.88



## INFORMATION FOR AUTHORS

Papers must be submitted in English. Authors whose mother tongue is not English should arrange for their manuscripts to be written in proper English prior to submission. Italian authors must submit their manuscripts both in Italian and in English.

*Procedure of Submission of Manuscripts:* submit three copies of both the manuscript and all illustrative material to the above address.

*Organization of the Manuscript:* investigative studies should be organized as follow: title, abstract page, introduction, material and methods, results, discussion, acknowledgments, references, legends for figures, tables. All pages should be numbered consecutively starting with the abstract. The entire manuscript is to be typewritten, double-spaced, and with 3 cm margins.

Trade names must be capitalized: the common name for compounds may be used if the formal chemical name as established by international convention is given after the first use. Any abbreviations other than those which are generally accepted must be defined. In the text, references to dual authors will use both surnames throughout. For multiple authors, use the surnames of all authors at the first reference and only the first author followed by "et al." thereafter. Please mark in the margin of the manuscript the desired position of the figures and tables. To allow faster publication only set of proofs will be furnished to the author including the figures and tables in their final position.

*Title page:* list the title, name(s) and degree(s) of author(s), department(s) and institution(s) at which the work was done, city, state, and postal code. Any preliminary report or abstract of the work should be referred to as a footnote to the title.

*Summary:* each paper must be headed by an English language title of not over 70 characters (including spaces) suitable for use as a running head and must also be preceded by an English summary not exceeding 300 words typed double-spaced. The summary will include statements of the problem, method of study, results, and conclusions. Since this summary will be used by abstracting journals, it must be self-explanatory and should not include abbreviations, footnotes, and references.

*Footnotes:* should be listed consecutively at the bottom of the page on which they fall, designated by the following symbols in order: \*, +, †, §, II, \*\*, etc.

*Key Words:* key words for computerised storage and retrieval of information should be incorporated in the summary.

*References:* the references have to be abbreviated as listed in the Index Medicus. The style of the references must conform to the examples given below:

- 1) Robbins CR, Kellych (1970) Aminoacid composition of human hair. Text Res J 40:891-896.
- 2) Strehler BL (1977) Time, cells and aging 2nd edn. Academic Press, New York
- 3) Ebling FJ, Rook (1972) Ciclic activity of the follicle. In: Textbook of dermatology 11, Blackwell, Oxford, p. 1567-1573.

*Illustrations:* figures should be numbered consecutively using Arabic numerals, Tables should be numbered consecutively, using Roman numerals. All photographs should be black and white, glossy and unmounted. The number and size of illustration should be restricted to the minimum needed to clarify the text. Authors requiring extra space for illustrations will be charge accordingly. This is also the case for color illustrations. All figures, photographs, graphs, or diagrams should be submitted on separate sheets.

*Animal Experiments:* descriptions of animal experiments should include full details of the types of animal used (inbred, etc.) and the conditions under which they were kept (standard diet, etc.).

*Trade Names:* all common cosmetic ingredients should be referred to by their generic names, as indicated in the latest edition of CTFA Cosmetic Ingredient Dictionary, and the European Pharmacopeia. If a material is not listed, then the trademarked name can be used, with the chemical composition given in footnotes.

## **INFORMAZIONI PER L'ABBONAMENTO**

L'abbonamento annuale comprende quattro numeri. È possibile ottenere abbonamenti a prezzo ridotto da parte dei ricercatori che lavorano presso Istituti che abbiano sottoscritto almeno un abbonamento a prezzo normale.

L'Editore potrà fornire a richiesta notizie più dettagliate. Le sottoscrizioni di abbonamento possono essere effettuate mediante assegni postali, bancari, di conto corrente o per contanti indirizzandoli a:

**INTERNATIONAL EDIEMME - Via Filippo Bernardini 22, 00165 ROMA**

**(c/c bancario n. 27/4328 Banco di Napoli Ag. 20)**

## **SOTTOSCRIZIONI ANNUALI**

Italia L. 60.000 - Altre Nazioni \$ 50

Numero singolo L. 16.000

Numero arretrato L. 20.000

L'IVA è a carico dell'editore, non detraibile dall'abbonato a norma art. 74 lett. C DPR 633/72.

## **SUBSCRIPTION INFORMATION**

Subscriptions are entered on a calendar year basis only and include four regular quarterly issues. Half-price subscriptions are available to research scientists whose institutions already subscribe at full rate. Details on application from publisher.

Payment must be made in U.S. dollars using bank draft, international postal money order only. Italian residents only may pay by personal check:

**INTERNATIONAL EDIEMME - Via Filippo Bernardini 22, 00165 ROMA**

**(C.C. bancario n° 27/4328, Banco di Napoli, Roma)**

## **ANNUAL SUBSCRIPTION RATE:**

Italy, Lit. 60.000 - Other Countries, \$ 50

**Additional Air Mail postage rate:** Africa and Middle East \$ 12. North, Central and South America \$ 14, Far East \$ 15, Oceania \$ 19.50

Statements and opinions expressed in the articles and communications herein are those of the author(s) and not necessarily those of the Editor(s), or publisher. The Editor(s) and publisher, disclaim any responsibility or liability for such material and do not guarantee, warrant, or endorse any product or service advertised in this publication nor do guarantee any claim made by the manufacturer of such product or service.



STAMP

Spett. Direzione **«JOURNAL OF APPLIED COSMETOLOGY»**  
**INTERNATIONAL EDIEMME**  
**Via F. Bernardini 22**  
**00165 ROMA (ITALY)**

STAMP

Spett. Direzione **«JOURNAL OF APPLIED COSMETOLOGY»**  
**INTERNATIONAL EDIEMME**  
**Via F. Bernardini 22**  
**00165 ROMA (ITALY)**

**INFORMAZIONI PER L'ABBONAMENTO**

L'abbonamento annuale comprende quattro numeri. È possibile ottenere abbonamenti a prezzo ridotto da parte dei ricercatori che lavorano presso Istituti che abbiano sottoscritto almeno un abbonamento a prezzo normale.

L'Editore potrà fornire a richiesta notizie più dettagliate. Le sottoscrizioni di abbonamento possono essere effettuate mediante assegni postali, bancari, di conto corrente o per contanti indirizzandoli a:

**INTERNATIONAL EDIEMME** - Via Filippo Bernardini 22, 00165 ROMA  
c/c bancario n. 27/4328 Banco di Napoli Ag. 20, 00165 Roma

**ABBONAMENTO JOURNAL OF APPLIED COSMETOLOGY**

Italia L. 60.000 - Altre Nazioni \$ 50

*Istruzioni per l'abbonato:*

- ☐ desidero abbonarmi a questa rivista per l'anno in corso
- ☐ rinnovo automaticamente il mio abbonamento per gli anni futuri (questa forma di abbonamento può essere comunque disdetta in ogni momento).
- ☐ Desidero ricevere le norme editoriali per eventuali collaborazioni.

(Scrivere in stampatello)

Nome \_\_\_\_\_

Indirizzo \_\_\_\_\_

Città \_\_\_\_\_ CAP \_\_\_\_\_

Nazione \_\_\_\_\_

### SUBSCRIPTION INFORMATION

Subscriptions are entered on a calendar year basis only and include four regular quarterly issues.

Half-price subscriptions are available to research scientists whose institutions already subscribe at full rate. Details on application from publisher.

Payment must be made in U.S. dollars using bank draft, international postal money order only. Italian residents only may pay by personal check:

C.C. bancario n° 27/4328, Banco di Napoli, Roma Ag. 20, 00165 Roma

## ORDER FORM JOURNAL OF APPLIED COSMETOLOGY

Annual subscription rate: Italy, Lit. 60.000 - Other countries, \$ 50

Additional Air Mail postage rate: Africa and Middle East \$ 12, North, Central and South America \$ 14, Far East \$ 15, Oceania \$ 19.50.

Please check

- ☐ 1 year subscription.  
☐ Renew my subscription automatically in future years (this continuation order is intended for subscriber's convenience only and may be cancelled at any time).  
☐ Send me a copy of information for Authors.  
☐ Please charge this order to my credit card (All order subject to credit approval). Delete as necessary:

AMERICAN EXPRESS DINERS CLUB

Card Number:

Expiration date .....

(Please Print)

Name \_\_\_\_\_

Address \_\_\_\_\_

City \_\_\_\_\_ Postal Code \_\_\_\_\_

Country \_\_\_\_\_



## 3 volumi a cura di **p. morganti e l. muscardin**

### INDICE DEL VOL. 1°

**Prefazione** del prof. R. PAOLETTI - Direttore dell'Istituto di Farmacologia dell'Università di Milano.

**Introduzione** del prof. F. SERRI - Direttore della Clinica Dermatologica dell'Università Cattolica di Roma.

#### Sezione I - CONSIDERAZIONI GENERALI

1. Cenni storici - 2. La bellezza della figura.

#### Sezione II - FISIOLOGIA E BIOLOGIA DELLA CUTE

3. Sviluppo della pelle. - 4. La struttura della cute. - 5. Biochimica e fisiologia dell'epidermide. - 6. Biologia del tessuto connettivo. - 7. Sistema vascolare e innervazione della cute.

#### Sezione III - LA CUTE COME ORGANO DI ASSORBIMENTO

8. Nozioni basilari sulla permeabilità e sull'assorbimento percutaneo. - 9. Membrane e assorbimento. - 10. Metabolismo della cute e degli annessi.

#### Sezione IV - CHIMICA E CHIMICO-FISICA DEI PREPARATI TOPICI

11. Materie prime e principi attivi di uso cosmetologico. - 12. Emulsioni ed emulsionanti. 13. Tensioattivi di uso cosmetico. 14. Gli antiossidanti ed i fenomeni ossidativi dei grassi. - 15. Antimicrobici e preservanti cutanei. - 16. Profumazione dei cosmetici. 17. Chimica e tossicologia dei coloranti. - 18. Prodotti cosmetici in aerosol.

### INFORMAZIONI PER L'ACQUISTO

Il pagamento quale anticipo di prenotazione per l'acquisto di copie delle monografie di **Dermatologia Cosmetologica** può essere effettuata mediante assegni postali, bancari, di conto corrente o per contanti indirizzandoli a:

**INTERNATIONAL EDIEMME** Via F. Bernardini 22 00165 Roma  
c/c bancario n° 27/4328 Banco di Napoli ag. 20 00165 Roma

☐ Prenoto fin da ora i volumi 2° e 3°.

*Con la presente richiedo:*

Copie n. .... del Volume n. 1

Copie n. .... del Volume n. 2

Copie n. .... del Volume n. 3

☐ Invio in contrassegno

☐ Accludo Assegno n. .... (a pagamento quale anticipo di prenotazione)

☐ Accludo ricevuta versamento C/C/P n. ....

Nome .....

Indirizzo .....

TIMBRO E FIRMA

Specificare condizioni di pagamento e fornire N° Codice Fiscale se è richiesta fattura.

## **PREFAZIONE**

La dermatologia cosmetologica rappresenta un capitolo della ricerca biologica e medica a lungo trascurato, ma ora in pieno sviluppo.

La chimica cosmetologica, che si è avvalsa del grande progresso scientifico e tecnologico negli ultimi decenni, ha messo a disposizione del biologo e del cosmetologo numerose ed attive sostanze nuove, che tuttavia di rado sono state studiate con approfondimento biologico, sia per le difficoltà di accertarne le caratteristiche farmacodinamiche e farmacocinetiche, sia per la reale insufficienza di conoscenze di base della biochimica normale e patologica della cute e dei suoi annessi.

Queste difficoltà — non ancora superate — vengono oggi affrontate con metodi più differenziati e quantitativi, utilizzando quanto la moderna farmacologia e la tossicologia unite a precisi metodi analitici possono offrire. L'impiego di culture di cellule e di tessuti, ed i nuovi metodi immunologici sono di fondamentale importanza per il progresso di questa scienza.

Ritengo perciò assai attuale ed utile l'iniziativa del dottor Pierfrancesco Morganti di redigere un volume di Dermatologia Cosmetologica che varrà a rispondere ad alcune almeno delle infinite domande di biologia e medicina che l'uso dei cosmetici impone.

Sono certo che, anche in questo campo, l'attiva presenza del dottor Morganti potrà dare frutti importanti e risultati duraturi.

**Prof. RODOLFO PAOLETTI**

*Direttore Istituto di Farmacologia  
e Farmacognosia dell'Università di Milano*

**CEDOLA DI COMMISSIONE LIBRARIA/ORDER FORM**

STAMP

Spett. Direzione **«DERMATOLOGIA COSMETOLOGICA»**  
**INTERNATIONAL EDIEMME**  
**Via F. Bernardini 22**  
**00165 ROMA (Italy)**



journal of  
applied  
cosmetology

Rivista trimestrale di Dermatologia cosmetologica  
Quarterly Review of Cosmetological Dermatology

**Contents**

**Guest Editorials**

- 7 The psychological benefits of cosmetics in health care: dermatologic perspective  
J.A. Graham and A.M. Kligmann

**Original laboratory studies**

- 19 Absorption and fate of orotic acid after topical application in different vehicles  
M.C. Martini, M.F. Bobin, H. Flandin, J. Cotte
- 27 Evaluation of the mutagenic activity of the hair-dye coupler 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-ethylaminophenol in different eukaryotic assays  
F. Darroudi, F.H. Sobels, A.T. Natarajan
- 38 Local therapy in androgenic alopecia  
W.G. Seiler, U. Feldmann, E. Bohnert, E.G. Jung

- 
- 48 To make art?  
B. Lisi

To live or to survive

- 50 Book Reviews

- 51 Announcements

## 1° Corso di Dermatologia Cosmetologica

### In collaborazione con

- Scuola per Tecnici Cosmetologi dell'Università Cattolica di Roma
- Fondazione Pro-Ricerca Dermatologica
- Clinica Dermatologica dell'Università Cattolica di Roma
- Clinica Dermatologica dell'Università di Firenze
- Clinica Dermatologica dell'Università di Bari
- Cattedra di Dermatologia Sperimentale dell'Università di Catania
- Istituto di Farmacologia dell'Università di Milano
- Cattedra di Tossicologia dell'Università di Roma

### Con il patrocinio del

- Ministero della Pubblica Istruzione
- Ministero della Sanità

### Scopi del corso

Il corso intende porre le basi teorico-pratiche della Dermatologia Cosmetologica quale nuova scienza ad indirizzo chimico-clinico. Verranno posti in rilievo sia i principi scientifici su cui sono fondati i prodotti cosmetici, che l'aspetto clinico della loro prescrizione.

Un particolare rilievo verrà dato, inoltre, sia ai problemi della penetrazione transcutanea dei prodotti cosmetici che agli aspetti tossicologici ed allergologici connessi con il loro uso continuativo ed esteso, talvolta, a vaste superfici cutanee.

Il corso è riservato ai dermatologi ed agli specializzandi in dermatologia che intendano perfezionare le loro conoscenze sui problemi riguardanti la Dermatologia Cosmetologica sia sotto l'aspetto formulativo che clinico prescrittivo. Con questo corso si vuole dare l'opportunità al Medico Dermatologo di comprendere a fondo le motivazioni tecnico-scientifiche che sono alla base delle diverse forme cosmetiche, delle materie prime impiegate nelle formulazioni e degli scopi che si prefiggono i diversi prodotti cosmetici.

### Informazioni generali

Il corso, svolto nelle diverse sedi Universitarie indicate e alle date stabilite dal programma, avrà la durata di tre giorni.

Per motivi didattici il numero dei posti è limitato e l'ammissione avverrà secondo la data di arrivo della domanda di iscrizione.

Gli ammessi verranno tempestivamente informati dell'avvenuta iscrizione. Il corso uguale nel programma generale di massima, sarà personalizzato dalle diverse Università.

Il prezzo del corso di L. 400.000, è comprensivo di tre pasti (3 pranzi a self-service). Al termine del corso verrà rilasciato un attestato di frequenza.

Richiedere la scheda di adesione a:

Journal of Applied Cosmetology  
Via Filippo Bernardini, 22 - 00165 Roma

### Calendario dei corsi nelle varie sedi

|                 |         |                                                 |
|-----------------|---------|-------------------------------------------------|
| 21-23 Marzo     | BARI    | (Clinica Dermatologica Università)              |
| 16-18 Maggio    | FIRENZE | (Clinica Dermatologica Università)              |
| 6-8 Giugno      | CATANIA | (Cattedra Dermatologia Sperimentale Università) |
| 19-21 Settembre | MILANO  | (Istituto Farmacologia Università)              |
| 7-9 Novembre    | ROMA    | (Clinica Dermatologica Università Cattolica)    |



## The psychological benefits of cosmetics in health care: dermatologic perspectives

J. A. GRAHAM<sup>\*1</sup>, Ph. D. and A. M. KLIGMAN, M.D., Ph. D. - Duhring Laboratories Department of Dermatology University of Pennsylvania School of Medicine Philadelphia, PA 19104 - USA - 1. formerly of the Department of Experimental Psychology, University of Oxford, England

*Received: June 12, 1984.*

**Key words:** Benefits of cosmetics, Camouflage cosmetics, Masking cosmetics, Psychology of cosmetics, Make-over, How cosmetic therapy works.

### Synopsis

Cutaneous changes, such as birth defects, scars, chronic dermatoses, trauma and aging that negatively affect appearance, may cause great psychological distress. Appearance defects markedly affect anxiety level, confidence and self image. Recent investigations by social scientists have confirmed the disadvantaged position of the naturally unhandsome and the cosmetically impaired. The benefits that can be obtained by appearance enhancement techniques need to be emphasized. Cosmetics comprise a ready means of improving attractiveness and self-image. Dermatologists, psychologists and cosmetologists should work more closely with each other to improve the quality of health care.

The psychological consequences of suboptimal or impaired appearance are not sufficiently appreciated by physicians. Dermatologists are strongly oriented toward diagnosis and treatment of skin lesions but are less knowledgeable about the personal burdens caused by various disfigurements and cosmetic alterations produced by skin disease.

All societies have treated their 'skin lepers' cruelly and insensitively. Disfigured persons are seriously handicapped in the pursuit of happiness and life satisfactions (1). Improving the appearance, on the other hand, can reinforce coping mechanisms and limit psychological damage (2). Surgical procedures like hair transplants, performed solely to improve appearance, are widely practiced by dermatologists. Skin specialists have also deve-

### Sommario

Le alterazioni cutanee, quali difetti dalla nascita, cicatrici, dermatosi croniche, traumi e invecchiamento, che influenzano negativamente l'aspetto, possono causare gravi disagi psicologici. I difetti dell'aspetto hanno un effetto significativo sugli stati di ansia, sulla fiducia in se stessi e sull'immagine della propria persona.

Recenti ricerche condotte da esperti di problemi sociali hanno confermato che la persona di aspetto non gradevole o affetta da difetti cosmetici si trova in una posizione svantaggiata.

È necessario sottolineare i benefici che possono derivare dal miglioramento dell'aspetto. I cosmetici rappresentano un mezzo rapido per migliorare le proprie attrattive fisiche o l'immagine di se stessi. I dermatologi, gli psicologi e i cosmetologi dovrebbero stabilire tra loro una più stretta collaborazione per migliorare la qualità delle cure sanitarie.

I medici non danno la giusta considerazione alle conseguenze psicologiche di un aspetto che è al di sotto dei valori normali o deturpato. I dermatologi sono fortemente orientati verso la diagnosi e il trattamento delle lesioni della pelle ma sono meno consapevoli dei problemi che possono causare sul piano personale le varie deformazioni e alterazioni estetiche provocate da malattie della pelle.

Tutte le società hanno trattato i «lebbrosi» in modo crudele e insensibile. Le persone sfigurate sono seriamente handicappate nella loro ricerca della felicità e delle soddisfazioni della vita (1). Al contrario, il miglioramento dell'aspetto può rinforzare i meccanismi di adattamento e limitare i danni psicologici (2).



loped considerable skills in correcting various cutaneous defects by a variety of techniques, including peels, dermabrasion and implants. Aesthetic surgery is a rising sub-specialty with its own societies and journals. However, dermatologists' knowledge regarding the proper use of moisturizers, foundation lotions, cleanser, bleachers, tinted covers, is often not much greater than the patients who seek their advice. Few skin doctors are fully aware of the benefits that accrue to the average person by skilled use of cosmetics. Even fewer are aware of the many serious studies conducted by social scientists regarding the role of the skin as a non-verbal means of communication.

A new field the 'psychology of cosmetics' is emerging. Controlled studies have demonstrated psychological benefits of cosmetic treatments for various groups of people, viz the mentally and physically ill (3), the unattractive aged (4) as well as healthy people, within the normal range of attractiveness (5).

The social psychology literature amply records that unattractiveness is a severe social handicap (6,7). The physically attractive gain many advantages in a variety of situations: for example, they fare better in interviews, elicit more helping behaviour, are excused for their failings, and are more favorably rated on personality attributes, such as kindness, sociability, and sensitivity. The physically attractive on the other hand, suffer many disadvantages and are viewed negatively by themselves and others.

Individuals with common skin conditions centered on the face, including acne, rosacea, pigmentary abnormalities, aging (wrinkles, looseness, epithelial growths) disfigurements — such as burns, scars, birthmarks and the diverse deformities that require plastic surgery, suffer greatly psychologically and socially. These departures from normal carry with them a

Gli interventi chirurgici, quali il trapianto dei capelli, che hanno il solo scopo di migliorare l'aspetto, sono ampiamente applicati dai dermatologi. Gli specialisti della pelle, inoltre, hanno sviluppato una notevole perizia nella correzione di vari difetti cutanei attraverso una varietà di tecniche, compreso il «peeling», la dermoabrasione e i trapianti. La chirurgia estetica è una sottospecializzazione in crescente sviluppo e dispone oramai di sue forme associative e sue riviste. Tuttavia, la conoscenza che i dermatologi hanno dell'uso idoneo di lozioni idratanti, basi, detergenti, schiarenti, fondotinta, spesso non è maggiore di quella che hanno i pazienti che si rivolgono a loro per consiglio. Pochi medici della pelle sono consapevoli dei benefici che possono derivare alla persona media da un abile uso dei cosmetici. Ancora meno sono a conoscenza dei molti seri studi condotti da esperti di problemi sociali sul ruolo della pelle come mezzo di comunicazione non verbale.

Una nuova disciplina sta emergendo: «la psicologia della cosmesi». Studi accurati hanno dimostrato i benefici psicologici dei trattamenti cosmetici per vari gruppi di persone, come, per esempio, le persone affette da infermità mentale e fisica (3), le persone anziane di aspetto non gradevole (4), ed anche le persone sane, che rientrano nella normalità (5).

La letteratura della psicologia sociale segnala diffusamente che un aspetto fisico non attraente è una seria limitazione sociale (6, 7). Le persone attraenti godono di molti più vantaggi in una varietà di situazioni: per esempio, si presentano meglio nelle interviste, sono in grado di stimolare comportamenti di maggiore disponibilità, sono scusate per i loro errori, e ricevono una valutazione più favorevole in relazione agli attributi della personalità, quali la gentilezza, la socievolezza e la sensibilità. Al contrario, le perso-



great social stigma.

The distinction between cosmetic and drug has become blurred. Skin care products now include cosmetic 'treatments' which promote cutaneous health as well as improve appearance. Substances formerly considered cosmetics are now regarded as drugs — viz, sunscreens, antiperspirants, and antidandruff, etc.

Applying beatifying cosmetics, (such as lipsticks eye shadows, etc.) which readily improve the appearance can be beneficial for certain kinds of problems. For example, cosmetic make-overs using standard beautifying cosmetics have been used to give the elderly, patients hospitalized for physical and mental disorders and 'normals', a psychological boost. Make-overs which involve a trained cosmetician applying facial cosmetics in an elaborate way favorably influence self perception and others' responses.

A complete make-over begins with skin cleanser, toner and moisturizer. Then color products are applied, usually in the following order: tinted facial foundation, blusher on cheeks, face powder, eye brow liner, colored eye shadow, eye liner, mascara and finally, lip liner and lipstick. The make-over specialist ideally should be something of an artist who understands how color can either bring out or subdue certain features.

The whole process may take twenty to thirty minutes, longer if the person is being taught how to conduct a make-over herself. A make-over may also include hair care such as cutting and restyling. This adds at least another thirty minutes. Usually at least one follow-up session is required for most individuals to become proficient in these techniques.

### Camouflage Cosmetics

Masking or cover cosmetics can be used

ne fisicamente sfavorite soffrono di molti svantaggi e sono viste negativamente da se stesse e dagli altri.

Gli individui affetti da comuni disturbi della pelle concentrati sul viso, compresa l'acne, la couperose, le anomalie di pigmentazione, l'invecchiamento (rughe, rilassamento, escrescenze epiteliali), deturpazioni — come le bruciature, le cicatrici, le voglie e le varie deformità che richiedono interventi di chirurgia plastica — soffrono profondamente sul piano psicologico e sociale. Queste deviazioni dalla norma rappresentano un «marchio» che ha grosse implicazioni sociali.

La distinzione tra prodotto cosmetico e medicinale si è andata facendo piuttosto confusa. I prodotti per la cura della pelle comprendono oggi «trattamenti» cosmetici che promuovono la salute cutanea e nello stesso tempo migliorano l'aspetto della pelle. Prodotti che una volta erano considerati dei cosmetici, sono oggi considerati dei medicinali — cioè, creme e lozioni e di protezione solare, antitranspiranti, e antiforfora, ecc.

L'applicazione di cosmetici di bellezza (quali i rossetti, gli ombretti, ecc.) che migliorano rapidamente l'aspetto possono essere benefici per certi tipi di problema. Per esempio, nel caso degli anziani, dei pazienti ricoverati in ospedale per disturbi fisici o mentali e delle persone «normali», si è utilizzato come stimolo psicologico l'intervento di truccatori che utilizzano normali cosmetici di bellezza. Il trucco che prevede l'intervento di un esperto in cosmesi che applica cosmetici facciali in modo elaborato influenza favorevolmente l'autopercezione e le risposte degli altri.

Un trucco completo comincia con detergente, tonico e idratante. Vengono poi applicati prodotti colorati, generalmente nel seguente ordine: fondotinta per il viso, rosso per le guance, cipria, matita per sopracciglia, ombretto colorato, matita



to camouflage port-wine haemangiomas, post-burn and post-surgery excision scars, inflammatory lesions of acne and rosacea, and pigmentary abnormalities, such as vitiligo (fig. 1).

Masking cosmetics tend to be rather heavy and thick but are available in a good range of skin shades. «Cover-mark» was the first brand of masking cosmetics and has enjoyed much success. Now similar products such as «Dermablend» are common. Moreover, cosmetic companies may provide in the better stores a personalized services for a wide range of needs. Adding cosmetics to dermatologic treat-

per occhi, mascara e, infine, matita per labbra e rossetto. Lo specialista del trucco, idealmente, dovrebbe essere un artista che comprende quale colore può dare risalto o attenuare certe caratteristiche.

L'intero processo può prendere venti o trenta minuti, o più se la persona sta imparando a truccarsi. Il trucco può anche comprendere la cura dei capelli quale il taglio e la piega. Questo aggiunge almeno altri trenta minuti. Normalmente, per la maggior parte delle persone serve almeno un'altra lezione pratica per diventare efficienti in queste tecniche.



**Fig. 1.** Severe post-inflammatory pigmentation in a darkly pigmented acne patient. A masking cosmetic (Dermablend) completely conceals these dreadful pigmented spots which may last for many months.



**Fig. 1.** Una grave pigmentazione post-infiammatoria in un paziente affetto da acne con pigmentazione scura. Un cosmetico di mascheramento (Dermablend) nasconde completamente queste brutte macchie pigmentate che possono durare molti mesi.



ment programs will often improve a therapeutic result and allow patients to enjoy the psychological benefits of looking better while receiving specific medical care (8).

For example, a patient with a long-lasting, scarring skin disorder such as lupus erythematosus can by routine use of the appropriate cosmetics, attain a more normal appearance and therefore a more satisfying personal status during years of treatment. Also, minimizing the visible defect generally enhances compliance with the treatment program.

Not only cover but also color correction is exceedingly important. For example, a green tinted foundation cream will de-emphasize redness, producing a more neutral color. This tactic is very useful for minimizing the embarrassing persistent red spots which follow inflammatory acne, dermabrasion, cryotherapy etc. Purplish discolorations from haemorrhages, bruising, etc. are effectively 'minimized' by yellow tinted cosmetic covers.

Skillful use of standard beautifying cosmetics enhances the efficacy of the camouflage; for example, a covering agent followed by use of color lip pencil and lipstick can disguise post surgical scarring in the lip area.

Skillful application of beautifying cosmetics can minimize disfigurements by drawing attention away from the physical defects while highlighting the more attractive aspects of the face.

There are also well known optical 'tricks' which can narrow or lengthen the distance between the eyes, or emphasize cheek bones, etc. The use of eye liners and colored eye shadow can increase the size and attractiveness of eyes. These and many other cosmetic techniques are useful in minimizing facial imperfections. Modifications in length, style and color of hair can also help to achieve agreeable effects (9).

## Cosmetici di mimetizzazione

Si possono usare cosmetici di mimetizzazione o copertura per nascondere emangiomi color vino, cicatrici da bruciatura e da incisione chirurgica, lesioni infiammatorie da acne e couperose, e anomalie di pigmentazione, come la vitiligine (Fig. 1).

I cosmetici di copertura tendono ad essere piuttosto pesanti e densi ma sono disponibili in una grande varietà di sfumature di colore. La «Cover mark» è stata la prima marca di cosmetici di copertura ed ha avuto molto successo. Oggi sono diventati comuni prodotti come il «Dermablend». I grandi magazzini offrono varie linee di cosmetici di copertura. Le società cosmetiche, inoltre, possono fornire ai migliori magazzini servizi personalizzati per un'ampia varietà di bisogni. L'aggiunta dei cosmetici a programmi di trattamento dermatologico migliorerà certamente il risultato terapeutico e consentirà ai pazienti di godere del beneficio psicologico di avere un aspetto migliore, mentre contemporaneamente ricevono specifiche cure mediche (8).

Per esempio, un paziente affetto da un disturbo della pelle di lunga durata, quale il lupus erythematosus può con l'uso quotidiano di cosmetici adeguati, ottenere un aspetto più normale e perciò uno status personale più soddisfacente durante anni di trattamento. Minimizzare, inoltre, l'effetto visibile, generalmente favorisce il buon esito del programma di trattamento.

Non soltanto è importante la correzione di copertura ma anche quella che modifica il colore. Per esempio, un fondotinta di colore verde minimizzerà il colore rosso della pelle, producendo un colore più neutro. Questo artificio è molto utile per ridurre l'imbarazzante effetto delle persistenti macchie rosse che seguono all'infiammazione dell'acne, alla dermoabra-



attractiveness group improved significantly more than the more attractive on most of these dimensions.

In another study (13) we found that physically attractive and unattractive elderly persons differed considerably with regard to their self perceptions. The attractive perceived themselves as significantly more healthy, as having a better overall feeling of well-being and cheerfulness, being better adjusted and with a more positive outlook on life. They were more satisfied with their lives, more socially engaged and more realistic.

(per valutare gli effetti sull'autopercezione) e valutazione di fotografie da parte di giudici indipendenti (5) (per valutare gli effetti sulla percezione degli altri).

Abbiamo riscontrato che il trucco del viso e la cura dei capelli hanno portato a valutazioni significativamente più favorevoli dell'aspetto e della personalità nel caso di professionisti di aspetto normale di età compresa tra venti e trenta anni. L'uso del trucco ha migliorato la valutazione degli aspetti più esteriori della personalità (socievolezza, fiducia in se stessi, e così via); la normale cura dei capelli ha



**Fig. 2.** The art of the make-over. By expert use of face and hair cosmetics a professional artist achieved this splendid result in a few hours. (Courtesy of Glenn Roberts, Elizabeth Arden Inc.)



**Fig. 2.** L'arte del trucco. Grazie all'abile uso di cosmetici per il viso e per i capelli, un artista professionista ha ottenuto questo splendido risultato in poche ore. (Per la cortesia di Glenn Roberts, Elizabeth Arden, Inc.).



These findings have important implications for the increasing number of persons who will attain old age. No one watches deterioration of appearance happily, whatever their situation. The unattractive elderly are particularly disadvantaged since they perceive themselves less favorably to begin with. However, they do stand to benefit more from cosmetic therapy. Thus, cosmetic therapy programs for the elderly might alleviate at least some of the heavy personal and social problems associated with aging.

### How Cosmetic Therapy Works

Cosmetic therapy can make people feel better by favorably altering their appearance. Life can be easier for the good looking.

Cosmetic treatment can, by acting as a vehicle to reach the underlying psychological state of the individual help those with low self-esteem, poor self image, and low motivation to care for their appearance, to change from a negative to a positive psychological state. Neglected appearance leads to negative perception by others, lowering of self esteem, and further neglect of appearance and self. Cosmetic care, on the other hand, can lead to improved social performance, and social acceptance; these provide positive feed-back to increase level of self-esteem and motivation to enhance appearance in the future.

### Cosmetic Plastic Surgery

The psychological benefits of cosmetic surgery have also been demonstrated by social scientists. For example, the perceived personality ratings of 'normals' who underwent cosmetic plastic surgery were significantly more favorable than before surgery (14). For criminals with di-

migliorato gli aspetti più «interiori» della personalità (sensibilità, affettuosità, sincerità, ecc.).

Studi condotti su donne anziane hanno mostrato che i benefici effetti compensativi sul piano psicologico della terapia cosmetica moderano gli stati d'animo negativi di natura affettiva (depressione, introversione) associati con l'età, in particolare per coloro che invecchiano male. Gli anziani ricoverati in ospedale hanno mostrato di trarre un beneficio sorprendente da queste terapie. La Figura 2 illustra la notevole trasformazione che è possibile ottenere con un abile trucco (Fig. 2).

Abbiamo mostrato che il trucco ha effetti positivi a breve termine. Ha determinato una migliore autopercezione del proprio aspetto (aspetto fisico attraente e sano); i soggetti esprimevano un sempre maggiore desiderio di uscire, di socializzare e di trovarsi con altre persone, in quanto avevano conquistato una maggiore fiducia in se stessi. Erano, dunque, più pronti a farsi vedere dagli altri e si sentivano più felici guardandosi allo specchio. Infine, sembravano aver acquisito una visione della vita più positiva. Vale la pena notare che gruppi caratterizzati da un aspetto fisico poco gradevole hanno mostrato, in relazione alla maggior parte di questi aspetti, miglioramenti significativamente più consistenti delle persone più attraenti.

Nel corso di un altro studio (13) abbiamo riscontrato che le persone anziane presentavano considerevoli differenze in relazione all'autopercezione a seconda che fossero fisicamente attraenti o no. Le persone attraenti si percepivano come molto più sane, come dotate di una sensazione generale di maggiore benessere e allegria, e come più capaci di adattamento avendo una visione della vita più positiva. Esse si mostravano più soddisfatte della loro vita, più impegnate socialmente e più realistiche.



sfigured faces, removing scars and tattoos and other disfigurements by plastic surgery reduced the rate of recidivism, particularly for those with facial rather than bodily disfigurements (15).

It has been found that female face lift patients show post operative psychological improvement in self esteem, coping ability, assertiveness and confidence in work, or eventual alleviation of depression level (16).

### **The future of Psychology of Cosmetics in Health Care**

It would be helpful to patients if physicians understood cosmetic techniques better and would take an active role in referring their patients to aestheticians, beauty counselors and appearance oriented psychologists. These specialists can be an important resource in the education of patients with skin disfigurements. One can already observe a trend for dermatologists to have full-time paramedical aestheticians as part of the staff. No matter what the cutaneous affliction, a person can effectively enhance his/her own appearance and psychological well-being by simple measures regularly and intelligently employed. When a cure for a skin disfigurement is unattainable, diminished visibility of the disfigurement is a worthwhile goal.

It is hoped that physicians will work more closely with psychologists who are concerned with appearance and cosmetics. It is important to increase the awareness of physicians and patients of the psychologically therapeutic value of appearance-enhancing cosmetic treatments.

Queste rilevazioni hanno importanti implicazioni per il numero sempre crescente di persone che arriverà ad età avanzata. Nessuno guarda al deterioramento fisico con gioia, qualunque sia la sua situazione. Gli anziani non attraenti sono particolarmente svantaggiati poiché, tanto per cominciare, percepiscono se stessi meno favorevolmente. Tuttavia, essi possono beneficiare della terapia cosmetica. Dunque, i programmi di terapia cosmetica per gli anziani possono alleviare almeno alcuni dei pesanti problemi personali e sociali associati con l'età.

### **Come funziona la terapia cosmetica**

La terapia cosmetica può far sentire meglio le persone alternandone favorevolmente l'aspetto. La vita è più facile per le persone che sono dotate di un aspetto gradevole.

Il trattamento cosmetico può, agendo come mezzo per raggiungere gli aspetti psicologici nascosti dell'individuo, aiutare coloro che hanno poca stima in se stessi, o una immagine negativa, e una scarsa motivazione a curare il loro aspetto, a cambiare da uno stato psicologico negativo ad uno positivo. Un aspetto trascurato porta ad una percezione negativa da parte degli altri, ad una diminuzione della stima per se stessi, e ad una ulteriore trascuratezza dell'aspetto e della propria persona in generale. Al contrario, le cure cosmetiche possono portare a migliori prestazioni sociali, e accettazione sociale; questi a loro volta forniscono una base positiva per aumentare la stima per la propria persona e la motivazione a migliorare ulteriormente il proprio aspetto.

### **Chirurgia plastica cosmetica**

Anche i benefici psicologici della chiru-



gia cosmetica sono stati dimostrati dagli esperti di problemi sociali. Per esempio, le valutazioni di personalità percepite come normali erano significativamente più frequenti a seguito di un intervento di chirurgia plastica cosmetica che prima dell'intervento (14). Nel caso di criminali con volti sfigurati, l'eliminazione di cicatrici e tatuaggi ed altre deturpazioni per mezzo di interventi di chirurgia plastica riduceva il tasso di recidivismo, in particolare quando si trattava di deturpazioni del viso più che del corpo (15). Si è riscontrato che pazienti di sesso femminile sottoposte a tiraggio della pelle mostrano, dopo l'operazione, un miglioramento psicologico in relazione alla stima di se stesse, alla capacità di adattamento, all'autosufficienza; riprendono, inoltre, fiducia nel lavoro, e presentano notevoli miglioramenti durante gli stati depressivi (16).

### **Il futuro della psicologia cosmetica nelle cure sanitaria**

Sarebbe utile ai pazienti se i medici comprendessero meglio le tecniche cosmetiche e si assumessero un ruolo attivo nell'indirizzare i loro pazienti agli estetisti, ai consulenti di bellezza, e agli psicologi che si occupano dell'aspetto fisico. Questi specialisti possono essere una risorsa importante nell'educazione di pazienti che presentano delle deturpazioni della pelle. Tra i dermatologi, si può già osservare una tendenza ad avere tra il loro personale degli estetisti paramedici a tempo pieno.

Una persona, non importa quale sia il suo problema cutaneo, può migliorare efficacemente il suo aspetto ed il proprio benessere psicologico per mezzo di semplici misure prese regolarmente e intelligentemente. Quando non si possa curare una deturpazione della pelle l'obiettivo che

**\* Reprint Requests:**

Dr. Jean Graham  
Department of Dermatology  
University of Pennsylvania School of Medicine -  
Room 244 - 36th & Hamilton Walk/GM Philadelphia,  
Pa 19104 - USA.

vale la pena di perseguire è di renderla meno evidente.

Si spera che i medici lavoreranno in futuro in più stretto contatto con gli psicologi che si occupano dei problemi dell'aspetto fisico e dei cosmetici. È importante, infatti, aumentare la consapevolezza sia dei medici che dei pazienti sul valore psicologicamente terapeutico dei trattamenti cosmetici che migliorano l'aspetto.

**REFERENCES**

1. Goffman, E. (1963) Stigma: notes on the management of spoiled identity. Englewood Cliffs, N.J.: Prentice Hall, pp. 1-40.
2. Graham, J.A. and Jouhar, A.J. (1983) The importance of cosmetics in the psychology of appearance. *Intl. J. Dermatol.* **22**, 153-156.
3. Graham, J.A. Pertschuk, M. and Kligman, A.M. (1983) Appearance training therapy for psychiatric disorders. *In manuscript*.
4. Graham, J.A., Kligman, A.M. (1983a) Cosmetic therapy for the elderly. *In manuscript*.
5. Graham, J.A. and Jouhar, A.J. (1981) The effects of cosmetics on person perception. *Intl. J. Cos. Sci.* **3**, 197-208.
6. Berscheid, E. and Walster, E.H. (1974) Physical attractiveness. In: *Advances in Experimental Social Psychology* (ed. L. Berkowitz), Vol. 7, New York, Academic Press, pp. 158-216.
7. Graham, J.A. and Jouhar, A.J. (1980) Cosmetics considered in the context of physical attractiveness: a review. *Intl. J. Cos. Sci.* **2**, 77-101.
8. Reich, M. (1961) Masking agent as adjunct therapy in cutaneous disorders. *Clin. Med.* **8**, 881-886.
9. A special item (1981) Basic skin care and cosmesis for the chronically ill, the mentally disturbed and the aged infirm. A service of the British Red Cross Society. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* **7**, 455-459.
10. McDonald, E. (1959) The hospital beauty scheme. *J. Soc. Cos. Chem.* **10**, 246-257.
11. Osgood, C.E., Suci, C.J. and Tannenbaum, P.H. (1957) The measurement of meaning. Urbana, University of Illinois.
12. Oppenheim, A.N. (1966) Questionnaire Design and Attitude Measurement. Heinemann, London; Basic Books, New York.
13. Graham, J.A. and Kligman, A.M. (1983b) Physical attractiveness, cosmetic use and self perception in the elderly. *In manuscript*.
14. Kalick, S.M. (1979) Aesthetic surgery: how it affects the way patients are perceived by others. *Annals of Plast. Surg.* **2**, 128-133.
15. Kurtzeberg, R.L., Safer, H. and Cavior, N. (1968) Surgical and social rehabilitation of adult offenders. *The proceedings of the 76th annual convention A.P.A.*
16. Goin, M.K., Burgoyne, R.W., Goin, J.M. and Staples, E.R. (198) A prospective psychological study of 50 female facelift patients. *Plast. Reconstr. Surg.* **65**, 436-442.



## Absorption and fate of orotic acid after topical application in different vehicles

M.C. MARTINI<sup>1</sup>, M.F. BOBIN<sup>1</sup>, H. FLANDIN<sup>2</sup>, J. COTTE<sup>1</sup>

1 - Laboratoire de Pharmacie Industrielle et de Technologie Parapharmaceutique 8 avenue Rockefeller 69008 Lyon France

2 - Centre de Recherche Appliquée en Dermobiochimie (C.E.R.A.D.) 51 rue Clément Marot 69007 Lyon France

*Received: March 30, 1984*

**Key words:** Orotic acid, Moisturization of the skin, Absorption orotic acid, Vehicles, Topical application

### Synopsis

Orotic acid is used in topical applications in order to maintain the moisturization of the stratum corneum and epidermal layers.

In this work the rate of cutaneous absorption of orotic acid and its accumulation in organs were evaluated using three different vehicles: one W/O microemulsion, one O/W emulsion and one aqueous clear gel. The same quantity of labelled orotic acid  $5\text{-}^3\text{H}$  was incorporated in each vehicle to obtain a radioactive concentration of  $10\text{ }\mu\text{Ci}/100\text{ mg}$ . The test substances were applied to the dorsal region of Sprague Dawley rats and the level of radioactivity was determined in skin, interscapular fat, muscle of the back paws, liver and kidneys, after 2, 6 and 24 hours.

At the same intervals, the distribution of radioactivity in cutaneous layers was studied in frozen section cut tangentially.

An accumulation of labelled sodium orotate in the dermal layers and then in fat and muscle was observed with the W/O microemulsion. Percutaneous absorption was more rapid from an aqueous vehicle such as an O/W emulsion or a clear gel. Nevertheless the total absorption was very small and less than 2% of the applied label was recoverable from the organs over 24 h.

### Introduction

Orotic Acid (uracil-6 carboxylic acid) is present in cow and goat Lactoserum and is known as a vitamin - like substance with an antianemic property (vitamin B<sub>13</sub>). It is involved in the biosynthesis of pyridinic bases and has been used for different therapeutic assays. It has been proposed as a feed supplement, in combina-

### Riassunto

L'acido orotico viene usato per applicazioni locali al fine di mantenere un buon livello di idratazione dello strato corneo e degli strati epidermici.

Nel presente lavoro si è valutato il tasso di assorbimento cutaneo dell'acido orotico e il suo accumulo negli organi usando tre differenti veicoli: una microemulsione A/O, una emulsione O/A, ed un gel trasparente. È stata incorporata in ciascun veicolo la stessa quantità di acido orotico marcato  $5\text{-}^3\text{H}$  in modo da ottenere una concentrazione di radioattività di  $10\text{ }\mu\text{Ci}/100\text{ mg}$ . Le sostanze prova sono state applicate sulla regione dorsale di ratti del tipo Sprague Dawley e si è determinato il livello di radioattività della pelle, dei grassi interscapolari, del muscolo della parte posteriore della zampa, del fegato, dei reni, a 2, 6 e 24 ore dopo l'applicazione.

Agli stessi intervalli di tempo si è studiata la distribuzione della radioattività negli strati cutanei in sezioni longitudinali ottenute con un microtomo a congelamento.

Si è osservato un accumulo di orotato di sodio marcato negli strati dermici, nei muscoli e nei grassi trattati con la microemulsione A/O. L'assorbimento percutaneo si verifica più velocemente con i veicoli acquosi quali l'emulsione O/A o il gel trasparente. Tuttavia, l'assorbimento totale è stato molto debole e la quantità di sostanza marcata riscontrata negli organi dopo 24 ore è stata inferiore al 2% della quantità applicata.

### Introduzione

L'acido orotico (acido uracil-6 carbossilico) è presente nel siero del latte di mucca e di capra ed è considerato una sostanza vitamino-simile avente effetto antianemico (vitamina B<sub>13</sub>). Entra nella biosintesi

tion with methionine, to aid growth of calves.

However, it is also known that one per cent of orotic acid added to the diet of rats completely inhibits the synthesis of lipoproteins by the liver (1) (2).

Its effect is to maintain the moisturization of the stratum corneum and a more internal action depends on its percutaneous absorption. Limited studies have been done on its transport and distribution in the body after oral administration (3) and we have not found any paper about its cutaneous absorption.

## Materials and methods

### Labelled Raw Material

5-<sup>3</sup>H orotic acid with a radioactivity of 22.6 curies/mmol equ. 143 mCi/mg. was used as a saturated aqueous solution of Na orotate.

The radioactivity for each of the three vehicles was 10 µCi/100 mg

### Vehicles

Vehicles were formulated with the following ingredients.

#### A - W/O Microemulsion

|                                                |         |
|------------------------------------------------|---------|
| Caprylic/capric triglycerides                  | 54.55 g |
| Sodium orotate<br>(saturated aqueous solution) | 5.45 g  |
| Polysorbate 85                                 | 25.6 g  |
| Polysorbate 80                                 | 6.4 g   |
| Benzyl alcohol                                 | 8.0 g   |

#### B - O/W Emulsion

|                  |     |
|------------------|-----|
| Glycol palmitate | 5 g |
| Paraffin oil     | 5 g |
| Almond oil       | 5 g |

delle basi piridiniche ed è stato utilizzato per differenti usi terapeutici. Ne è stato anche proposto l'uso come supplemento alimentare in combinazione con la metionina per favorire la crescita dei vitelli. Tuttavia, è noto che l'aggiunta di un 1% di acido orotico nella dieta dei ratti inibisce completamente la sintesi delle lipoproteine da parte del fegato (1, 2).

Il suo effetto è quello di mantenere l'idratazione dello strato corneo, mentre l'azione sistemica dipende dal suo assorbimento percutaneo. Pochi studi sono stati condotti sul trasporto e la distribuzione nel corpo dell'acido orotico dopo somministrazione orale (3) e non ci è stato possibile trovare alcun lavoro che trattasse del suo assorbimento cutaneo.

## Materiali e metodi

### Materia prima marcata

L'acido orotico, marcato 5-<sup>3</sup>H avente una radioattività di 22,6 curies/m.mol equivalente a 143 mCi/mg, è stato utilizzato come soluzione acquosa satura di orotato di Na.

La radioattività per ciascuno dei tre veicoli era 10µCi/100 mg.

### Veicoli

Sono stati formulati con i seguenti ingredienti:

#### A - Emulsione A/O

|                                                |         |
|------------------------------------------------|---------|
| trigliceridi C <sub>8</sub> -C <sub>10</sub>   | 54,55 g |
| Orotato di sodio<br>(soluzione acquosa satura) | 5,45 g  |
| Sorbitan (20) OE trioleato                     | 25,6 g  |
| Sorbitan (20) OE monooleato                    | 6,4 g   |
| Alcool benzilico                               | 8,0 g   |



|                              |      |   |
|------------------------------|------|---|
| Myreth-4 myristate           | 10   | g |
| Steareth-10                  | 4    | g |
| Preservative                 | 0.1  | g |
| Sodium orotate               |      |   |
| (saturated aqueous solution) | 5.45 | g |
| Water q.s.                   | 100  | g |

**C - Clear Gel**

|                                          |      |   |
|------------------------------------------|------|---|
| Carbomer 934                             | 1    | g |
| Sodium orotate                           |      |   |
| (saturated aqueous solution)             | 5.45 | g |
| Water                                    | 90   | g |
| Triethanolamine q.s.                     |      |   |
| in order to obtain a clear gel at pH 7.2 |      |   |

**Animals**

Three groups of 18 male Sprague Dawley rats weighing about 300 g were used. One day before the beginning of the experiment, the hair from the dorsal region was clipped from the animals. A few minutes before spreading the test substance, the animals were constrained in order to avoid the risk of oral absorption.

**Topical application**

Each group received formulation A, B or C: 0.25 g of the test substance were applied homogeneously to a 14 cm<sup>2</sup> hairless area which was defined with a polyethylene cylinder. At each time 2 h, 6 h, 24 h after spreading the product, six rats were killed. The skin of the test area, liver, kidneys, interscapular fats, and back paw muscles were collected and analysed.

**Treatment of organs and tissues samples**

Each sample was wiped clean of excess blood and then cut in thin pieces. The sample (40-50 mg) was weighed in liquid scintillation flasks, dissolved in 1 ml of

**B - Emulsione O/A**

|                               |      |   |
|-------------------------------|------|---|
| Etilen glicol monopalmitato   | 5    | g |
| Olio di paraffina             | 5    | g |
| Olio di mandorle              | 5    | g |
| PEG-4-Miristiletere miristato | 10   | g |
| Alcool stearilico (10) OE     | 4    | g |
| Conservante                   | 0,1  | g |
| Orotato di sodio              |      |   |
| (soluzione acquosa satura)    | 5,45 | g |
| Acqua q.b.                    | 100  | g |

**C - Gel chiaro**

|                                          |      |   |
|------------------------------------------|------|---|
| Carbossivinil polimero                   | 1    | g |
| Orotato di sodio                         | 5,45 | g |
| Acqua                                    | 90   | g |
| Trietanolamina q.b.                      |      |   |
| per ottenere un gel trasparente a pH 7,2 |      |   |

**Animali**

Sono stati utilizzati tre gruppi di 18 ratti maschi del tipo Sprague-Dawley del peso di circa 300 gr. ciascuno. Un giorno prima dell'esperimento è stata rasata la regione dorsale degli animali. Pochi minuti prima di distribuire la sostanza in esame si è adattato agli animali un sistema di contenzione per evitare il rischio di assorbimento orale.

**Applicazione locale**

A ciascun gruppo è stato applicato uno dei composti, A, B, o C; 0,25 gr. della sostanza in esame sono stati applicati omogeneamente su una zona priva di peli di 14 cm<sup>2</sup> preventivamente definita per mezzo di un cilindro in polietilene. La pelle, della zona studiata, il fegato, i reni, i grassi interscapolari e il muscolo della parte posteriore della zampa sono stati poi prelevati ed analizzati.

Soluene 350 (Packard) and put in a drying chamber at 40° C during 180 h. After cooling, 15 ml of scintillant liquid was added to the digested tissue and the radioactivity was evaluated with a liquid scintillation system.

#### Treatment of the skin

The skin was cut from dermal to epidermal layers with a freezing microtome in order to obtain tangential sections. The sections (40 µm thick) were prepared in Solouene-350 in a drying chamber at 40° C for 18 h, ACSAmersham liquid was added and the sections were counted.

## Results

#### Total skin

Two hours after topical application of the test substance, the level of radioactivity in the total skin was 50% of the initial quantity for the three vehicles. After 24 h the level of the radioactivity was still high. (Table I- Fig. 1).

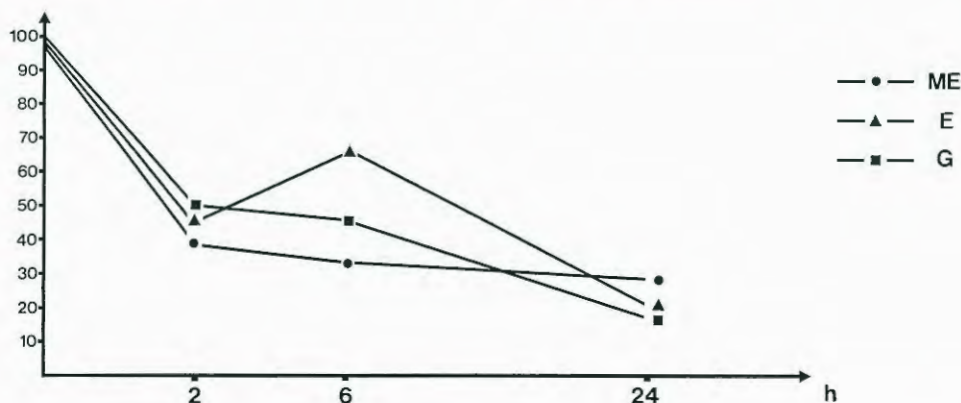


Fig. 1: Rate of radioactivity found in total skin in comparison to applied quantity.

#### Trattamento degli organi e dei tessuti

Ciascun campione, dopo essere stato tagliato in pezzi sottili, è stato pulito al fine di eliminare l'eccesso di sangue. Il campione (40-50 mg) è stato pesato direttamente in un contenitore per scintillazione liquida, dissolto in 1 ml di Soluene-350 (Packard) e mantenuto a 40° C per 18 ore. Dopo raffreddamento, si sono aggiunti 15 ml. di liquido per scintillazione al tessuto digerito e si è valutata la radioattività con il sistema a scintillazione liquida.

#### Trattamento della pelle

La pelle è stata tagliata lungo gli strati che vanno dal derma all'epidermide con un microtomo a congelamento per ottenere delle sezioni longitudinali. I campioni (40 µm di spessore) sono stati digeriti a gruppi di cinque con Soluene-350 in una camera a secco a 40° C per 18 ore; si è aggiunto il liquido ACS-Amersham ed è stata eseguita la conta.

Fig. 1: Grado di radioattività riscontrato nella cute in rapporto alla quantità di prodotto applicato.



**Table I**  
**Labelled orotic acid (in  $\mu\text{Ci}$ ) found in one gram of total skin**  
 (Applied quantity:  $8.3 \mu\text{Ci/g}$  of skin)

| Vehicle           | 2h              | Time<br>6h      | 24h             |
|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| W/O Microemulsion | $3.5 \pm 0.74$  | $3.06 \pm 0.75$ | $2.3 \pm 0.52$  |
| O/W emulsion      | $3.85 \pm 1.6$  | $5.17 \pm 1.85$ | $1.72 \pm 0.41$ |
| Aqueous gel       | $4.09 \pm 2.76$ | $3.9 \pm 1.52$  | $1.15 \pm 0.32$ |

#### Distribution between Dermis and Epidermis

The distribution of sodium orotate into dermal and epidermal layers was different for each of the three vehicles even if the quantities recovered from the total skin were about the same (Fig. 2).

With the W/O microemulsion, 60% of labelled orotate was retained in the epidermal layers over the first hours of experiment. After 6 and 24 h there was only 40% of the labelled substance in the epidermal layers and 60% in the dermal layers.

With the O/W emulsion, cutaneous absorption of orotate seemed to be enhanced. Accumulation in the dermal layers was quick important (65% at the first hour) and remained the same for 6 hours. The level decreased by the 24th hour probably because of diffusion to the underlying tissues.

By contrast, the cutaneous absorption of orotate was slower with the clear gel; at all times, the quantities of labelled substance were always higher in the epidermal than in dermal layers.

#### Tissues and organs

Radioactivity in organs was very low in relation to the amount initially applied but it increased from 0.2 to 2% in 24 hours (Table II)

Accumulation in the liver and kidneys

#### Risultati

##### Pelle totale

Due ore dopo l'applicazione locale della sostanza in esame, il livello di radioattività della cute intera era pari al 50% della quantità iniziale per tutti e tre i veicoli. Dopo 24 ore, il livello di radioattività era ancora alto (Tabella I - Figura 1).

##### Distribuzione Derma-Epidermide

La distribuzione di orotato di sodio negli strati del derma e dell'epidermide era differente per ciascuno dei tre veicoli anche se le quantità rilevate nella pelle «in toto» erano quasi le stesse (Figura 2).

Con la microemulsione A/O, durante le prime ore dell'esperimento, veniva trattenuto negli strati dell'epidermide il 60% di orotato marcato. Dopo 6 e 24 ore soltanto il 40% della sostanza marcata risultava presente negli strati dell'epidermide, e il 60% negli strati del derma.

L'emulsione O/A sembra favorire l'assorbimento cutaneo dell'orotato. La quantità assorbita negli strati del derma ha raggiunto subito un livello significativo (65% nella prima ora) ed è rimasto allo stesso livello per sei ore. Il livello è diminuito alla ventiquattresima ora probabilmente a causa di una diffusione negli strati di tessuto sottostanti.

Al contrario, con il gel trasparente l'as-

reached a peak 6 hours after the cutaneous application in the O/W emulsion or the clear gel, but not until 24 hours after application in the W/O microemulsion. The more interesting finding was that the accumulation of the labelled substance in fats and muscles occurred very quickly and at a five times higher level when the vehicle was the W/O microemulsion.

## Discussion

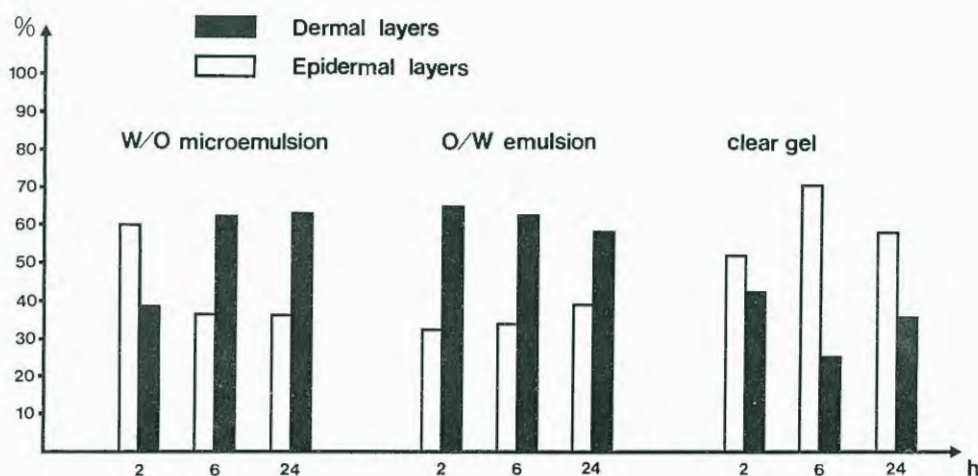
After oral administration, orotic acid appears in the blood, the liver, the kidney in 3 to 6 hours. After 24 hours, there was no more orotic acid in the kidney tubules (3). Percutaneous absorption seems also to be very rapid from aqueous vehicles such as a clear gel or an O/W emulsion. The water soluble active substance is transported easily through the capillary flow.

The situation is different when sodium

sorbimento cutaneo di orotato è stato più lento; la quantità di sostanza marcata rilevata negli strati dell'epidermide è risultata sempre più alta di quella presente negli strati del derma.

## Tessuti ed organi

Negli organi, la radioattività è risultata molto debole in confronto alla quantità di sostanza marcata applicata localmente all'inizio dell'esperimento ma è aumentata dallo 0.2 al 2% in 24 ore (Tabella II). L'accumulo nel fegato e nei reni è risultato molto alto 6 ore dopo l'applicazione cutanea dell'emulsione O/A e con il gel trasparente, ma solo 24 ore dopo l'applicazione della microemulsione A/O. È interessante osservare come l'accumulo di sostanza marcata nei grassi e nei muscoli sia avvenuto molto rapidamente e sia cinque volte più alto quando si utilizzano l'emulsione O/A ed il gel al posto



**Fig. 2:** Distribution of orotic acid in dermal and epidermal layers from different vehicles. (The radioactivity is evaluated as a percentage of quantity found in total skin).

**Fig. 2:** Distribuzione dell'acido orotico negli strati dermici ed epidermici con diversi veicoli.



**Table II**  
**Radioactivity (counts/min) for 1 gram of tissue or organ**

| Vehicle<br>Vehicle   | Tissue or<br>Organ | 2h           | 6h           | 24h          |
|----------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|
| W/O<br>Microemulsion | Liver              | 3932 ± 562   | 9816 ± 1448  | 26000 ± 5407 |
|                      | Kidney             | 6154 ± 1898  | 8918 ± 1350  | 10108 ± 1770 |
|                      | Fats               | 22027 ± 3176 | 11969 ± 2540 | 20587 ± 3681 |
|                      | Muscle             | 28188 ± 4375 | 7851 ± 1889  | 10579 ± 4643 |
| O/W<br>Emulsion      | Liver              | 2844 ± 758   | 18176 ± 4875 | 20177 ± 4372 |
|                      | Kidney             | 4570 ± 691   | 16129 ± 3043 | 17364 ± 4760 |
|                      | Fats               | 5849 ± 1119  | 16022 ± 2678 | 16616 ± 3618 |
|                      | Muscle             | 3568 ± 638   | 19284 ± 6531 | 18504 ± 5070 |
| Clear Gel            | Liver              | 12414 ± 4360 | 20912 ± 5778 | 14557 ± 3030 |
|                      | Kidney             | 6565 ± 1064  | 23407 ± 6080 | 17968 ± 3816 |
|                      | Fats               | 6059 ± 1326  | 23818 ± 5432 | 19756 ± 4150 |
|                      | Muscle             | 4958 ± 899   | 14355 ± 3116 | 19981 ± 4391 |

orotate is incorporated into a W/O microemulsion. In this case, the water soluble substance is enclosed inside the macromicelles and realises a new active liposoluble material. This could explain the fast and durable accumulation of salified orotic acid in fats.

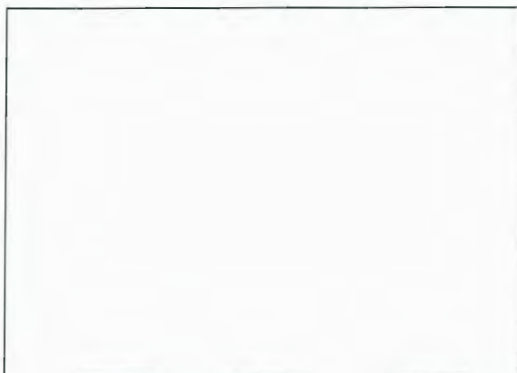
Thus, the penetration of orotic acid into cutaneous layers is faster from aqueous vehicles such as O/W emulsion or clear gel. A W/O microemulsion leads to a slow diffusion with accumulation of the active substance in the dermal layers because of its slow resorption. In any case, the percutaneous absorption of orotic acid is very weak and its accumulation in organs in 24 hours is less than 2% of the applied quantity.

della microemulsione A/O.

### Discussione

Dopo somministrazione orale, l'acido orotico appare nel sangue, nel fegato e nei reni in un tempo che va da 3 a 6 ore. Dopo 24 ore, non si riscontra più presenza di acido orotico nei tubuli renali (3). L'assorbimento percutaneo, inoltre, sembra molto veloce con veicoli acquosi quali un gel trasparente o una emulsione O/A. La sostanza attiva solubile in acqua viene trasportata facilmente attraverso il sistema capillare.

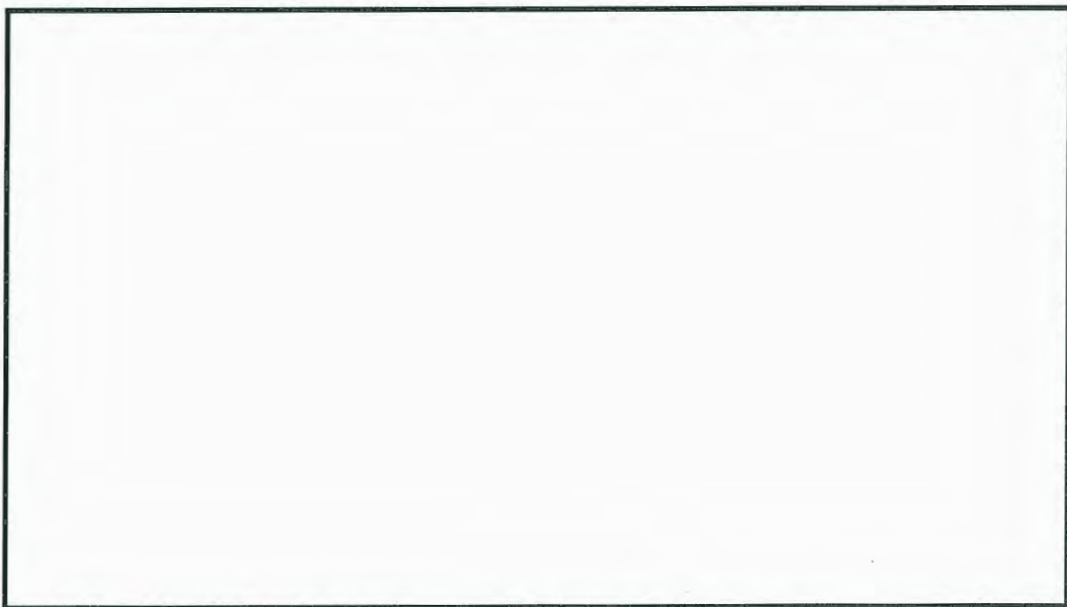
Diversamente avviene quando l'orotato di sodio viene incorporato in una microemulsione A/O. In questo caso la sostanza, solubile nell'acqua, viene racchiusa dentro le micromicelle e diviene un nuovo materiale attivo liposolubile. Questo potrebbe spiegare il fenomeno di accumulo veloce e duraturo nei grassi dell'acido orotico salificato.



In conclusione, la penetrazione di acido orotico negli strati cutanei è più veloce quando esso viene incorporato in un veicolo acquoso quale una emulsione O/A o un gel trasparente. Una microemulsione A/O porta ad una diffusione lenta con un accumulo della sostanza attiva negli strati del derma a causa di un lento riassorbimento. Tuttavia, l'assorbimento percutaneo dell'acido orotico è molto debole ed il suo accumulo negli organi in 24 ore è più basso del 2% della quantità totale applicata.

#### REFERENCES

1. Rajaram O.V., Fatterpaker P, Sreenivasan A. (1974). Involvement of lipoproteins in the absorption and transport of  $\alpha$ -tocopherol in the rat *Biochem. J.* **140**, 509-516.
2. Windmueller H.G., Levy R.I., (1967): Total inhibition of hepatic  $\beta$ -lipoprotein production in the rat by orotic acid *J. Biol. Chemistry* **242**, 2246-2254
3. Chen Ch., Su H.S., (1961): Histochemical study on orotic acid. *The J. of Vitaminology* **7**, 309-316.





## Evaluation of the mutagenic activity of the hair-dye coupler 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-ethylaminophenol in different eukaryotic assays

F. DARROUNDI<sup>1</sup>, F.H. SOBELS<sup>1</sup> and A.T. NATARAJAN<sup>1,2</sup>

1 - Department of Radiation Genetics and Chemical Mutagenesis, University of Leiden, Sylvius Laboratories, Wassenaarseweg 72, 2333 AL Leiden. 2 - J.A. Cohen Institute, Interuniversity Institute of Radiation Protection and Radiopathology, Leiden, The Netherlands.

Received: April 20, 1984

**Key words:** Mutagenic activity, Hair dye coupler, 2-methyl-5-N- $\beta$ -Hydroxyethyl-aminophenol, Mutagenic activity potential, *Drosophila melanogaster* test, Mouse lymphoma cells test, Microsomal system test.

### Synopsis

This study was aimed at investigating whether the hair-dye coupler 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-ethylaminophenol would exert mutagenic or clastogenic activity in *Drosophila melanogaster* or mammalian cells, tested both *in vitro* and *in vivo*. Consistently negative results were obtained in tests for the induction of: (1) sexlinked recessive lethals in *Drosophila melanogaster*, (2) chromosome aberrations and sister chromatid exchanges (SCEs) in CHO cells *in vitro* (with and without metabolic activation), (3) micronuclei in polychromatic erythrocytes from mouse bone marrow, and (4) TK mutation in mouse lymphoma cells.

### Introduction

For a proper evaluation of the potential mutagenic activity of a chemical, it is considered desirable to employ a battery of different test systems. We have been testing a series of hair-dye components for their possible mutagenic effects using a battery of tests (Darroudi *et al.*, 1982, 1983a, b) and this paper concerns a coupler (oxidation) dye, 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-ethylaminophenol.

### Materials and Methods

2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-ethylaminophenol was synthesized and purified at

### Riassunto

Questo studio è diretto a determinare l'eventuale attività mutagena o clastogenica esercitata dal couplante di tinture per capelli 2-metil, 5-N- $\beta$ -idrossietil amminofenolo nei confronti della *Drosophila melanogaster* o nelle cellule dei mammiferi; il componente è stato esaminato sia *in vitro* che *in vivo*. Nelle prove si sono ottenuti dei risultati uniformemente negativi per quanto riguarda la induzione di: (1) caratteri letali recessivi legati al sesso; (2) aberrazioni cromosomiche e scambi di cromatidi fratelli (SCS) nelle cellule di CHO *in vitro* (con e senza attivazione metabolica); (3) micronuclei in eritrociti policromatici di midollo osseo di topo e (4) mutazione TK nelle cellule di linfoma di topo.

### Introduzione

Per una corretta valutazione dell'attività mutagena potenziale di una sostanza chimica, è auspicabile l'uso di una serie di differenti sistemi di analisi. Abbiamo analizzato una serie di componenti di tinture per capelli per determinarne i possibili effetti mutageni usando una batteria di analisi (Darroudi *et al.*, 1982, 1983a, b); il presente lavoro si riferisce ad una sostanza copulante (d'ossidazione), il 2-metil, 5-N- $\beta$ -idrossietil-amminofenolo.

l'Oréal, Paris. It is a beige powder soluble in water and DMSO.

**(1) *Drosophila melanogaster*, sex-linked recessive lethal test:**

The compound was dissolved in 5% sucrose solution and fed to adult Berlin-K males (1-2 days old) by using glass filters (Würgler *et al.*, 1977). The concentrations tested were 25 and 100mM, the 3-day feeding period was preceded by a 7-hour period of starvation. The standard Muller-5 mating scheme was used. The treated males (4-5 days old) were subsequently mated individually to 2-5 day old Muller-5 females (3 virgins per male) to raise a series of 3 consecutive broods 3, 2 and 2. All experiments were carried out at 25° C. The F<sub>2</sub> generation was inspected for the occurrence of sexlinked recessive lethals. F<sub>2</sub> cultures with 2 or more wild-type males were considered as non-lethals, retests were made to confirm possible (semi-)lethality.

The data were analyzed with the Kastenbaum-Bowman (1970) significance test.

**(2) Chinese hamster ovary cells (chromosomal aberrations and SCEs):**

CHO cells were grown in Ham's F-10 medium supplemented with 15% new-born calf serum (Gibco) and antibiotics (penicillin G and streptomycin). The cells were cultured at 37° C in a 5% CO<sub>2</sub> atmosphere. For the evaluation of chromosomal aberrations CHO cells were treated for 1, 6, 12, 16 and 24 hours with different concentrations of the dye component. The cells were fixed immediately after treatment, except in the case of the 1-hour treatment, in which case the cells were allowed to recover for 24 hours be-

**Materiali e metodi**

Il 2-metil, 5-N- $\beta$ -idrossietil-amminofenolo è stato sintetizzato e purificato presso L'Oreal, Parigi. È una polvere beige solubile in acqua e in DMSO.

**(1) *Drosophila melanogaster*, test dei caratteri letali recessivi legati al sesso:**

Il composto disciolto in una soluzione al 5% di saccarosio, è stato fatto ingerire a maschi adulti Berlin (nati da 1 o 2 giorni) usando filtri di vetro (Würgler *et al.*, 1977). Le concentrazioni analizzate erano di 25 e 100 mM; il periodo di alimentazione di tre giorni è stato preceduto da 7 ore di digiuno. È stato utilizzato lo schema di accoppiamento standard di Muller-5. I maschi sottoposti al trattamento (al 4-5 giorno di vita) sono stati successivamente accoppiati individualmente con femmine Muller-5 aventi da 2 a 5 giorni di vita (3 vergini per maschio) per produrre una serie di 3 filiazioni consecutive, 3, 2 e 2. Tutti gli esperimenti sono stati condotti a 25°. La generazione F<sub>2</sub> è stata osservata per verificare la presenza di caratteri letali recessivi legati al sesso. Le culture F<sub>2</sub> con due o più maschi normali venivano considerate come non letali; le prove sono state ripetute per verificare un possibile carattere semi-letale. I dati sono stati analizzati con il test di significatività di Kastenbaum-Bowman.

**(2) Cellule ovariche di hamster cinese (CHO) (aberrazione cromosomica e SCE):**

Cellule di CHO sono state coltivate nel substrato F-10 di Ham, arricchito con 15% di siero di vitello appena nato (Gibco) e antibiotici (penicillina G e streptomicina). Le cellule sono state coltivate a 37° C in una atmosfera al 5% di CO<sub>2</sub>. Per



fore fixation. For evaluating SCEs, following the 1-hour treatment (1.6 mg/ml), the cells were washed in PBS (phosphate buffered saline) and allowed to replicate twice in the presence of 5-BrdUrd. The rest of the cells were treated with chemicals until the end of the fixation time. To incorporate the activation aspect of mammalian metabolism, CHO cells after growing 12 hours in the presence of 5-BrdUrd, were exposed to the test compound together with S-9 supernatant from Aroclor induced rat livers for one hour (Natarajan *et al.*, 1976). After treatment, the cells were washed and were grown for an additional 12 hours before fixation in the presence of 5-BrdUrd; with this procedure chromosomal aberrations and SCEs were evaluated in the same population of treated CHO cells. Cyclophosphamide (CP), which requires metabolic activation to be mutagenic, was used as a positive control. After Colcemid block (0.5 ml of 0.00028% per 10 ml medium), trypsinization, hypotonic shock (1% sodium citrate), cells were fixed with methanol-acetic acid (3-1). Air-dried preparations were made on ice-cold wet slides. To detect chromosomal aberrations, the slides were stained with 2% aqueous solution of Giemsa (Gurr's R66 improved), and to determine the frequencies of SCEs, the slides were stained with the FPG technique (Perry and Wolff, 1974). For each treatment, the frequencies of SCEs were scored in at least 40 metaphases and chromosomal aberrations were analyzed in 100 metaphases. Student's t-test was employed to determine the statistical significance.

### (3) Mouse lymphoma cells, TK test (forward mutation $TK^{+/-}$ $TK^{-/-}$ ):

The mouse lymphoma cells ( $3.0 \times 10^5$  cells/ml) were grown in suspension cul-

la valutazione delle aberrazioni cromosomiche, le cellule di CHO sono state sottoposte a trattamento per 1, 6, 12, 16 e 24 ore con differenti concentrazioni del componente per tinture. Le cellule sono state fissate immediatamente dopo il trattamento, ad esclusione del trattamento di un'ora, caso in cui le cellule sono state lasciate a riposo per 24 ore prima della fissazione. Per valutare gli SCE le cellule sottoposte a trattamento di un'ora (1,6 mg/ml) sono state lavate in STF (soluzione salina di tampone fosfato) e lasciate riprodursi due volte in presenza di 5-BrdUrd. Le cellule rimanenti sono state trattate con i reagenti fino alla fine del tempo di fissazione. Per includere anche l'attivazione metabolica dei mammiferi, le cellule di CHO, dopo una crescita di 12 ore in presenza di 5-BrdUrd, sono state esposte per un'ora al composto di prova insieme con il supernatante S-9 derivato da fegato di ratto trattato con Aroclor (Natarajan *et al.*, 1976). Dopo il trattamento le cellule sono state lavate e coltivate per altre 12 ore prima della fissazione in presenza di 5-BrdUrd; con questa procedura sono state valutate le aberrazioni cromosomiche e gli SCE nella stessa popolazione di cellule CHO trattate. Si è usato come controllo positivo la ciclofosfamide (CF) che, per essere mutagena, richiede una attivazione metabolica.

Dopo il blocco di Colcemid (0,5 ml di 0,00028 per 10 ml di substrato), tripsinizzazione, shock ipotonico (1% di citrato di sodio), le cellule sono state fissate con metanolo-acido acetico (3-1). Preparati essiccati all'aria sono stati ottenuti su vetrini ghiacciati e umidi. Per identificare le aberrazioni cromosomiche i vetrini sono stati colorati con una soluzione acquosa al 2% di Giemsa (R66 di Gurr, modificato), e per determinare le frequenze di SCE, i vetrini sono stati colorati con la tecnica FPG (Perry e Wolff, 1974). Per ogni trattamento le frequenze di SCE so-



ture in Ham's F-10 medium, supplemented with 15% newborn calf serum and antibiotics. The medium was cleansed with thymidine, hypoxanthine, methotrexate-glycine (THMG) mixture to reduce spontaneous TK<sup>-/-</sup> mutant cells (Clive and Spector, 1975).

The test chemical was added to the cell suspension, the cultures were placed in the shaker incubator for 2 and 4 hours at 37°C. After treatment, the cells were washed and propagated in Roux bottles for 3 and 6 days in complete medium to allow expression of the induced mutants. In this period, cell counts were made daily to  $3.0 \times 10^5$  cells/ml on each day of expression and the mutated cells were diluted out. At the end of the expression period, cells were seeded for cloning efficiency. The standard medium was supplemented with 0.35% Noble agar (Difco). To select cells with TK<sup>+/-</sup>-deficient phenotype, 5-BrUrd (50  $\mu$ g/ml) was added to the agar medium. All cultures were incubated at 37°C, 5% CO<sub>2</sub> for 10-14 days. Then the viable count and BrUrd-resistant colonies were counted in control and 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-ethylaminophenol treated cultures (Clive *et al.*, 1979).

#### (4) Mouse bone marrow micronucleus test:

Four mice, 2 Swiss random bred and 2 +/sg (WLH/Le-Pas X Swiss random bred), 10-12 weeks old were used for each treatment. The test chemical was administered intraperitoneally (0.4 ml of the desired concentration up to 400 mg/kg b.w.). 24 and 48 hours after treatment, the animals were killed by cervical dislocation. Bone marrow cells were prepared and stained by the Schmid (1976) procedure. The student's t-test was used to evaluate the data.

no state valutate in almeno 40 metafasi e le aberrazioni cromosomiche sono state analizzate in 100 metafasi. È stato impiegato il test di Student per determinare la significatività statistica dei dati.

#### (3) Cellule di linfoma di topo, prova TK (mutazioni in avanti TK<sup>+/-</sup> TK<sup>-/-</sup>):

Sono state coltivate cellule di linfoma di topo ( $3.0 \times 10^5$  cellule/ml) in una cultura in sospensione nel substrato F-10 di Ham, arricchito con 15% di siero di embrione bovino e antibiotici. Il mezzo è stato purificato con una miscela di timidina, ipoxantina, glicina-metotrexato (THMG) per eliminare le cellule mutanti spontanee TK<sup>-/-</sup> (Clive e Spector, 1975).

Si è aggiunto il composto di prova alla sospensione di cellule, le culture sono state poste in un incubatore-agitatore per 2 e 4 ore a 37°C. Dopo il trattamento le cellule sono state lavate e lasciate riprodurre in una bottiglia di Roux per 3 e 6 giorni in un substrato completo per consentire la formazione dei mutanti indotti. In questo periodo, sono stati eseguiti conteggi giornalieri su  $3.0 \times 10^5$  cellule/ml in ciascun giorno di formazione e le cellule mutate sono state allontanate per diluizione. Alla fine del periodo di formazione, le cellule sono state inseminate per l'efficienza di clonazione. Il substrato standard è stato arricchito con 0,35% di Noble agar (Difco). Si è aggiunto 5-BrdUrd (50 g/ml) al mezzo di agar per selezionare le cellule con fenotipo mancante di TK<sup>+/-</sup>. Tutte le culture sono state incubate a 37°C, 5% di CO<sub>2</sub> per 10-14 giorni.

Successivamente le cellule vitali e le colonie resistenti al BrdUrd sono state contaminate nelle culture di controllo e in quelle trattate con 2-metil, 5-N-betaidrossietilamminofenolo (Clive *et al.*, 1979).



## Results and discussion

The results of the sex-linked recessive lethal test with *Drosophila melanogaster* are summarized in Table I.

Feedings of 25 and 100mM of the dye component slightly reduced fertility, but no mutagenic effect was detected. In the treated series, the X-chromosome mutation frequency is 0.087% and in the controls 0.171% thus, there is no difference between controls and treated series.

The results of the chromosomal aberration and SCE test in CHO cells are summarized in Table II. All experiments were repeated twice. A toxicity effect was observed after 12 and 16 hours with the highest concentration of the chemical (1.2 mg/ml), and in the SCE test (24-hour treatment), a delay occurred in the cell cycle at a concentration of more than 0.005 mg/ml. The results of the experiment performed in the presence of S9-mix are summarized in Table III. From the results it can be concluded that 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-ethylaminophenol does not increase the frequencies of chromosomal aberrations and SCEs above control levels.

The results of TK<sup>+</sup>/<sup>-</sup> assay, employing mouse lymphoma cells, are presented in Table IV. Following 2 and 4-hour treatments of mouse lymphoma cells ( $3.0 \times 10^5$  cells/ml) with the hair-dye component, the cells were allowed to have an expression period of 3 and 6 days. Even at the highest dose of 1000  $\mu$ g/ml, resulting in 20-30% mortality of the cells, no significant mutagenicity was observed.

The results of the micronucleus test in mouse bone marrow are presented in Table V, which indicate that there was no increased frequency of micronuclei in polychromatic erythrocytes, due to the treatment.

In conclusion, it can be stated that our studies with 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-

### (4) Esame del micronucleo nel midollo osseo del topo:

Per ogni trattamento sono stati impiegati quattro topi, 2 Swiss accoppiati casualmente e 2 +/-sg (WLH/Le-Pas X Swiss accoppiati casualmente) di 10-12 settimane di età. La sostanza di prova è stata somministrata per via intraperitoneale (0,4 ml della concentrazione desiderata fino a 400 mg/kg di peso corporeo). A 24 e 48 ore dopo il trattamento, gli animali sono stati sacrificati. Sono state preparate e colorate cellule di midollo osseo secondo la procedura di Schmid (1976). Per la valutazione dei dati è stato utilizzato il test t di Student.

## Risultati e discussione

I risultati del test del carattere letale recessivo legato al sesso condotto sulla *Drosophila melanogaster* sono riassunti nella tabella I.

L'alimentazione con 25 e 100 mM del componente di tinture ha lievemente ridotto la fertilità ma nessun effetto mutageno è stato osservato. Nelle serie trattate, la frequenza di mutazione del cromosoma X è di 0,087% e 0,171% nei controlli; perciò non c'è differenza tra le serie di controllo e quelle trattate.

La tabella II riassume i risultati delle prove di aberrazione cromosomica e di SCS nelle cellule di OHC. Tutti gli esperimenti sono stati ripetuti due volte. È stato osservato un effetto di tossicità dopo 12 e 16 ore alle più alte concentrazioni della sostanza chimica (1,2 mg/ml), e nel test SCS (trattamento di 24 ore) si è verificato un ritardo nel ciclo cellulare ad una concentrazione superiore a 0,005 mg/ml. La tabella III riporta i risultati dell'esperimento condotto in presenza della miscela S-9. Dai risultati si può concludere che

ethylaminophenol employing a variety of assay systems gave no indications for the induction of gene mutations in *Drosophila* or mouse lymphoma cells, or of chromosome aberrations and SCEs in CHO cells *in vitro*, nor of micronuclei in mouse bone marrow cells. Our data are entirely in line with the negative results obtained by Shahin *et al.* (1983) with *Salmonella typhimurium* and *Saccharomyces cerevisiae*, and Loprieno and Boncristiani (1983) with *Schizosaccharomyces pombe* and a UDS assay in human cells.

il 2-metil, 5-N-betaidrossietil amminofenolo non aumenta la frequenza delle aberrazioni cromosomiche e degli SCS al di sopra dei livelli di controllo. La tabella IV mostra i risultati del saggio TK<sup>+</sup>/<sup>-</sup> che utilizza cellule di linfoma di topo. Nel caso dei trattamenti, di 2 e 4 ore, di cellule di linfoma di topo (3,0 x 10<sup>5</sup> cellule/ml) con il componente di tinture per capelli, le cellule sono state lasciate a riposo per un periodo di 3 e 6 giorni. Persino alla dose più alta di 100 g/ml, che ha dato come risultato il 20/30% di mortalità delle cellule, non è stata osservata alcuna azione mutagena significativa.

La tabella V riporta i risultati del test del micronucleo nel midollo osseo di topo, che indicano che, a seguito del trattamento non si è verificato alcun aumento nella frequenza di micronuclei negli eritrociti policromatici. In conclusione, si può affermare che i nostri studi sul 2-metil, 5-N-betaidrossietil amminofenolo, condotti utilizzando una varietà di prove, non hanno dato indicazione di induzione di mutazioni genetiche nelle cellule di *Drosophila* o di linfoma di topo, o di aberrazioni cromosomiche e di SCS nelle cellule di OHC *in vitro*, né di micronuclei nelle cellule di midollo osseo di topo. I nostri dati sono completamente in linea con i risultati negativi ottenuti da Shahin *et al.*, (1984) con la *Salmonella typhimurium* e la *Saccharomyces cerevisiae*, e da Loprieno e Boncristiani con il *Schizosaccharomyces pombe* e un saggio UDS in cellule umane (1984).



**Table I**  
**Induction of sex-linked recessive lethals in drosophila male germ cell**  
**by 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxyethylaminophenol**

| Concentration (mM)     | Treatment conditions        | Brood 1 (0-3 days)                 |         | Brood 2 (3-5 days)                 |         | Brood 3 (5-7 days)                 |         | Mutagenic activity |
|------------------------|-----------------------------|------------------------------------|---------|------------------------------------|---------|------------------------------------|---------|--------------------|
|                        |                             | No. leth./<br>No. chromo-<br>somes | % leth. | No. leth./<br>No. chromo-<br>somes | % leth. | No. leth./<br>No. chromo-<br>somes | % leth. |                    |
| 25                     | 3 days feeding              | 1/814                              | 0.122   | 1/751                              | 0.133   | 0/588                              | —       | —                  |
| 100                    | 3 days feeding              | 2/889                              | 0.224   | 0/835                              | —       | 0/730                              | —       | —                  |
| Control <sup>(a)</sup> | 3 days feeding or injection | 4/4041 <sup>(b)</sup>              | 0.173   | 5/3852 <sup>(b)</sup>              | 0.129   | 7/3184 <sup>(b)</sup>              | 0.219   | —                  |

(a) 5% sucrose, 2% DMSO, and 7.5% cotton seed + 0.3% pluronic F-68 + 0.6% lecithin.

(b) Number of chromosomes tested was pooled from 15 experiments.

**Table II**  
**Frequencies of chromosomal aberrations and SCEs in CHO cells following treatment**  
**with 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxyethylaminophenol**

| Compound (mg/ml.) | Fixation time, (period of treatment) (h) | Number of cells scored <sup>(a)</sup> | Aberrations/100 cells <sup>(a)</sup> |                      |           |                          | SCEs/cell <sup>(b)</sup> |        |
|-------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|----------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|--------|
|                   |                                          |                                       | Gaps                                 | Breaks and fragments | Exchanges | Abnormal cells/100 cells | $\bar{X}$                | (Sd)   |
| Control           | 24 (1) <sup>(c)</sup>                    | 300                                   | 4                                    | 3                    | 0         | 7                        | 7.35                     | (0.37) |
| 0.4               | 24 (1)                                   | 300                                   | 4                                    | 4                    | 0         | 8                        | 7.20                     | (0.46) |
| 0.8               | 24 (1)                                   | 300                                   | 5                                    | 3                    | 0         | 8                        | 7.20                     | (0.56) |
| 1.6               | 24 (1)                                   | 300                                   | 4                                    | 6                    | 0         | 9                        | 8.35                     | (0.74) |
| Control           | 24                                       | 300                                   | 4                                    | 4                    | 0         | 8                        | 9.48                     | (0.84) |
| 0.00125           | 24                                       | 300                                   | 5                                    | 6                    | 0         | 10                       | 8.94                     | (0.93) |
| 0.00250           | 24                                       | 300                                   | 3                                    | 5                    | 0         | 8                        | 9.66                     | (0.55) |
| 0.005             | 24                                       | 300                                   | 6                                    | 4                    | 0         | 9                        | 11.25                    | (1.05) |
| 0.01              | 24                                       | 275                                   | 5                                    | 7                    | 0.6       | 11                       | no differentiation       |        |
| Control           | 6                                        | 300                                   | 4                                    | 4                    | 0         | 8                        |                          |        |
| 0.15              | 6                                        | 300                                   | 3                                    | 4                    | 0         | 7                        |                          |        |
| 0.3               | 6                                        | 300                                   | 4                                    | 4                    | 0         | 8                        |                          |        |
| 0.6               | 6                                        | 300                                   | 4                                    | 4                    | 0         | 8                        |                          |        |
| 1.2               | 6                                        | 300                                   | 6                                    | 6                    | 0         | 11                       |                          |        |
| Control           | 12                                       | 300                                   | 4                                    | 5                    | 0         | 9                        |                          |        |
| 0.15              | 12                                       | 300                                   | 5                                    | 5                    | 0         | 10                       |                          |        |
| 0.3               | 12                                       | 300                                   | 7                                    | 6                    | 0         | 12                       |                          |        |
| 0.6               | 12                                       | 300                                   | 9                                    | 8                    | 0.33      | 16                       |                          |        |
| Control           | 16                                       | 300                                   | 6                                    | 6                    | 0         | 11                       |                          |        |
| 0.15              | 16                                       | 300                                   | 6                                    | 5                    | 0         | 10                       |                          |        |
| 0.3               | 16                                       | 300                                   | 7                                    | 8                    | 0         | 14                       |                          |        |
| 0.6               | 16                                       | 300                                   | 7                                    | 9                    | 0         | 16                       |                          |        |

(a) Pooled data from 3 experiments.

(b) Pooled data from 3 experiments, and 150 metaphases were analyzed for each treated concentration.

(c) The CHO cells were treated with chemical for 1 hour, fixation was carried out after 24 hours.

**Table III**  
**Frequencies of chromosomal aberrations and SCEs in CHO cells after treatment**  
**with 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxyethylaminophenol (in the presence of S9-mix)**

| Compound<br>(mg/ml)          | Fixation<br>time (h) | S9-mix | Number<br>of cells<br>scored | Aberrations/100 cells |                         |           |                                | SCEs/cells <sup>A</sup> |        |
|------------------------------|----------------------|--------|------------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------|--------------------------------|-------------------------|--------|
|                              |                      |        |                              | Gaps                  | Breaks and<br>fragments | Exchanges | Abnormal<br>cells/100<br>cells | $\bar{X}$               | (s.d.) |
| Control (DMSO)               | 12                   | —      | 100                          | 6                     | 3                       | 0         | 8                              | 7.75                    | (0.84) |
| Control                      | 12                   | +      | 100                          | 5                     | 3                       | 0         | 8                              | 8.25                    | (0.73) |
| CP (0.837x10 <sup>-2</sup> ) | 12                   | —      | 100                          | 8                     | 6                       | 0         | 12                             | 8.00                    | (0.56) |
| CP(0.837x10 <sup>-2</sup> )  | 12                   | +      | 100                          | 7                     | 8                       | 0         | 13                             | 21.80                   | (2.48) |
| CP(0.837)                    | 12                   | —      | 100                          | 7                     | 8                       | 0         | 13                             | ND                      | —      |
| CP(0.837)                    | 12                   | +      | 100                          | 13                    | 32                      | 7         | 47                             | ND                      | —      |
| 0.8                          | 12                   | —      | 100                          | 6                     | 7                       | 0         | 12                             | 7.85                    | (0.55) |
| 0.8                          | 12                   | +      | 100                          | 6                     | 6                       | 0         | 11                             | 8.20                    | (0.92) |
| 1.6                          | 12                   | —      | 150                          | 6                     | 4                       | 0         | 10                             | 8.64                    | (0.74) |
| 1.6                          | 12                   | +      | 150                          | 8                     | 6                       | 0         | 12                             | 8.80                    | (0.83) |

(A) 40 metaphases were analysed for each treated concentration.

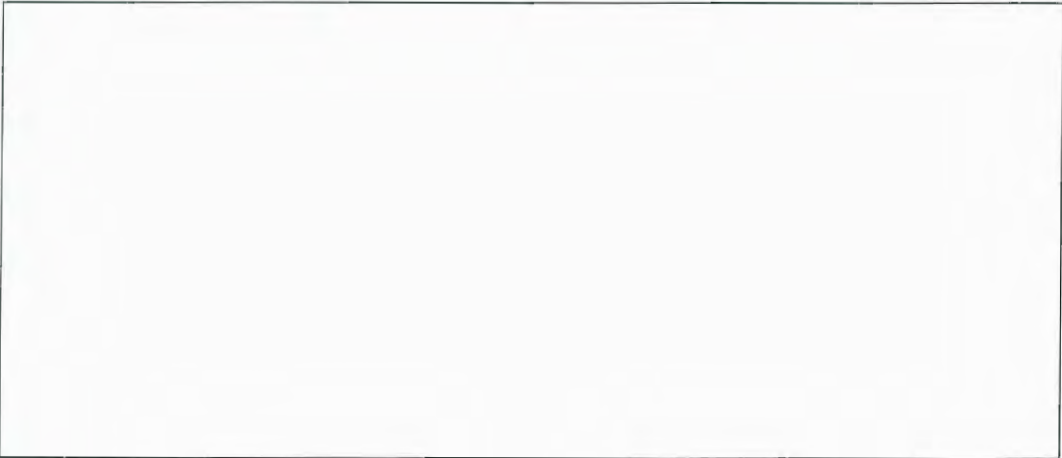
(ND) no differentiation



Table IV  
Frequencies of TK<sup>-/-</sup> mutations in L5178Y mouse lymphoma cells, following treatment with 2-methyl-5-N-β-hydroxyethylaminophenol

| Concentration<br>(μg/ml)      | Exposure<br>(h) | Expression<br>period (day) | Cell survival | Mutat frequency per 10 <sup>4</sup><br>survivors |
|-------------------------------|-----------------|----------------------------|---------------|--------------------------------------------------|
| Control (DMSO)<br>(CE = 102%) |                 |                            |               |                                                  |
| 0                             | 2               | 3                          | 100           | 0.46                                             |
| 10                            | 2               | 3                          | 89            | 0.52                                             |
| 100                           | 2               | 3                          | 89            | 0.52                                             |
| 200                           | 2               | 3                          | 81            | 0.56                                             |
| 400                           | 2               | 3                          | 78            | 0.58                                             |
| 800                           | 2               | 3                          | 75            | 0.55                                             |
| 1000                          | 2               | 3                          | 72            | 0.65                                             |
| 0                             | 4               | 3                          | 100           | 0.43                                             |
| 10                            | 4               | 3                          | 85            | 0.52                                             |
| 100                           | 4               | 3                          | 87            | 0.49                                             |
| 200                           | 4               | 3                          | 75            | 0.47                                             |
| 400                           | 4               | 3                          | 83            | 0.49                                             |
| 800                           | 4               | 3                          | 78            | 0.54                                             |
| 1000                          | 4               | 3                          | 76            | 0.57                                             |
| 0                             | 2               | 6                          | 100           | 0.46                                             |
| 100                           | 2               | 6                          | 83            | 0.53                                             |
| 400                           | 2               | 6                          | 82            | 0.53                                             |
| 1000                          | 2               | 6                          | 80            | 0.55                                             |
| 0                             | 4               | 6                          | 100           | 0.39                                             |
| 100                           | 4               | 6                          | 79            | 0.58                                             |
| 400                           | 4               | 6                          | 74            | 0.65                                             |
| 1000                          | 4               | 6                          | 70            | 0.68                                             |

CE% - Absolute cloning efficiency of control in soft agar.



**Table V**  
**Frequencies of micronuclei in mouse bone marrow cells following treatment**  
**with 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxyethylaminophenol**

| Dose<br>(mg/kg.b.w.) | Number of animals<br>treated | Number of cells<br>analyzed | Time between<br>treatment and<br>fixation (h) | Number of<br>micronuclei per 1000<br>polychromatic<br>erythrocytes |
|----------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Control (saline)     | 2 (Swiss random-<br>bred)    | 2000                        | 24                                            | 3.0                                                                |
| 0                    | 2                            | 2000                        | 24                                            | 2.5                                                                |
| 12.5                 | 2                            | 2000                        | 24                                            | 2.5                                                                |
| 25.0                 | 2                            | 2000                        | 24                                            | 3.5                                                                |
| 50.0                 | 3                            | 3000                        | 24                                            | 2.0                                                                |
| 100                  | 3                            | 3000                        | 24                                            | 3.0                                                                |
| 200                  | 3                            | 3000                        | 24                                            | 4.0                                                                |
| 400                  | 2                            | 2000                        | 48                                            | 2.0                                                                |
| 0                    | 2                            | 2000                        | 48                                            | 2.5                                                                |
| 12.5                 | 2                            | 2000                        | 48                                            | 2.5                                                                |
| 25.5                 | 2                            | 2000                        | 48                                            | 3.0                                                                |
| 50.0                 | 3                            | 3000                        | 48                                            | 3.6                                                                |
| 100                  | 3                            | 3000                        | 48                                            | 3.0                                                                |
| 200                  | 3                            | 3000                        | 48                                            | 3.0                                                                |
| 400                  | 3                            | 3000                        | 48                                            | 3.0                                                                |
| 0 (saline)           | 2 (+/sg)                     | 2000                        | 24                                            | 1.5                                                                |
| 100                  | 2                            | 2000                        | 24                                            | 1.0                                                                |
| 200                  | 2                            | 2000                        | 24                                            | 2.0                                                                |
| 400                  | 3                            | 3000                        | 24                                            | 2.3                                                                |
| 0                    | 2                            | 2000                        | 48                                            | 1.5                                                                |
| 100                  | 2                            | 2000                        | 48                                            | 1.5                                                                |
| 200                  | 2                            | 2000                        | 48                                            | 2.0                                                                |
| 400                  | 3                            | 3000                        | 48                                            | 2.0                                                                |





## REFERENCES

- 1) Clive, D., and J.F.S. Spector (1975) Laboratory procedure for assessing specific mutation at the TK locus in cultured L5178Y mouse lymphoma cells, *Mutation Res.*, 31, 17-29.
- 2) Clive, D., K.O. Johnson, J.F.S. Spector, A.G. Batson and M.M.M. Brown (1979) Validation and characterization of the L5178Y/TK<sup>+</sup> mouse lymphoma mutagen/carcinogen assay system, *Mutation Res.*, 49, 61-108.
- 3) Darroudi, F., A.C. van Kesteren-van Leeuwen and A.T. Natarajan (1982) Test of induction of chromosomal aberrations in Chinese hamster ovary cells (*in vitro*) by 2-(2'-4'-diaminophenoxy) ethanol, *Mutation Res.*, 102, 351-355.
- 4) Darroudi, F., F.S. Sobels and A.T. Natarajan (1983a) Evaluation of the mutagenic potential of the hair dye N-methyl-amino-2-nitro-N', N'-bis-(2-hydroxyethyl)-aminobenzene in a battery consisting of Drosophila and mammalian cytogenetic assays, *Mutation Res.*, 116, 169-178.
- 5) Darroudi, F., F.H. Sobels and A.T. Natarajan (1983b) Mutagenic activity of 7 different hair dye components in different eukaryotic assays (*in preparation*).
- 6) Kastenbaum, M.A., and K.O. Bowman (1970) Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies, *Mutation Res.*, 9, 527-549.
- 7) Loprieno, N., and G. Boncristiani (1984) Mutagenicity tests of the hair dye coupler 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-ethylaminophenol in the yeasts (forward-mutations and gene conversions) and in the human cell line UDS assays *in print on J. Appl. Cosmetol.*
- 8) Natarajan, A.T., A.D. Tates, P.P.W. van Buul, M. Meijers and N. de Vogel (1976) Cytogenetic effects of mutagens/carcinogens after activation in a microsomal system *in vitro*. I. Induction of chromosome aberrations and sister chromatid exchanges by diethylnitrosamine (DEN) and dimethylnitrosamine (DMN) in CHO cells in the presence of rat liver microsomes, *Mutation Res.* 37, 83-90.
- 9) Perry, P., and S. Wolff (1974) New Giemsa method for the differential staining of sister chromatid exchanges, *Nature (London)* 252, 156-158.
- 10) Schmid, W. (1976) The micronucleus test for cytogenetic analysis, in: A. Hollaender (ed.), *Chemical Mutagens, Principles and Methods for their Detection*, Vol. 4, Plenum Press, New York, pp. 31-52.
- 11) Shahin, M.M., C. Chopy, N. Lequesne, M.J. Mayet and G. Bardoneschi (1984) Mutagenicity tests of the hair dye coupler 2-methyl-5-N- $\beta$ -hydroxy-ethylaminophenol in *Salmonella typhimurium*/microsome plate assay and *Saccharomyces cerevisiae* strains D4 *J. Appl. Cosmetol.* 2, 27 (N° 3).
- 12) Würgler, F.E., F.H. Sobels and E. Vogel (1977) *Drosophila* as assay system for detecting genetic changes, in: B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramel (Eds.), *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, Elsevier, Amsterdam, pp. 335-375.

## Local therapy in androgenic alopecia

W.G. SEILER<sup>1\*</sup>, U. FELDMANN<sup>2</sup>, E. BOHNERT<sup>1</sup>, and E.G. JUNG<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Hautklinik der Fakultät für klinische Medizin Mannheim der Universität Heidelberg

<sup>2</sup> - Medizinische Statistik, Biomathematik und Informationserverarbeitung an der Fakultät für klinische Medizin Mannheim der Universität Heidelberg

*Received: 27 August, 1984*

**Key words:** Androgenic Alopecia, Local Hair Therapy, Hair maintenance, Hair density, Suprabulbar diameter of anagen hairs.

### Synopsis

This study has 2 aims. a) to find out whether there are any possibilities of early influencing male-pattern Alopecia by topical therapeutics in the sense of «hair maintenance». b) To define easy performable methods for its objective measurement. A clinical study under controlled double blind conditions was done in 30 male volunteers (age 21-30) with mpa type I and II (Rook). After a washout phase of 7 days, 3 test preparations (placebo and verum at 2 concentrations) were daily applied topically at the scalp for 16 weeks. Verum preparations contained Trime-thylxanthin (TMX) as an inhibitor of cyclic AMP phosphodiesterase. Unit area trichogram controls were done before, after 2 weeks and at the end of the study. In addition to the hair density (hair/cm<sup>2</sup>) and the differentiation of anagen, dysplastic and telogen hair bulbs the suprabulbar diameter (µm) of anagen hairs and the extractable cAMP of anagen hair bulbs (RIA, NEN Chemicals, pmol/hair) were measured. The absolute frequency for each parameter was assessed using contour analysis. The biometrical comparison between placebo and verum shows a strong trend in favour of the verum (TMX 0,1%), whereas an increase of TMX (0,5%) does not confirm this trend. The best parameters were the hair diameter ( $p=7\%$ ), the A/T ratio ( $p=15\%$ ) and the A+D/T ratio ( $p=15\%$ ). These criteria may help to anticipate therapeutic efforts before gross visual evidence appears in hair maintenance.

### Introduction

The possibilities of preserving hair in the presence of a genetic disposition of androgenic alopecia are among the most important topics of aesthetic medicine. An adult hair which is destined, following androgenic stimulus, to be transformed into lanugo and, eventually, to be lost, can

### Riassunto

Gli obiettivi di questo studio sono due: a) individuare eventuali possibilità di intervento tempestivo sull'alopecia di tipo maschile, servendosi di una terapia topica di tipo «conservativo»; b) individuare metodi facilmente attuabili, perché oggettivamente quantizzabili. Abbiamo eseguito uno studio clinico, a doppio cieco, su 30 volontari di sesso maschile (età 21-30), affetti da alopecia di tipo maschile tipo I e II (Rook). Dopo una fase di lavaggio di 7 giorni, ogni giorno, per 16 settimane, sono stati applicati localmente 3 preparati (placebo e soluzione attiva a 2 concentrazioni). I preparativi attivi contenevano trimetilxantina (TMX) come inibitore della fosfodiesterasi dell'AMP ciclico. I tricogrammi di controllo della zona unitaria sono stati eseguiti prima, dopo 2 settimane e alla fine dello studio. Oltre alla densità dei capelli (capelli/cm<sup>2</sup>) e alla differenziazione dei bulbi piliferi in fase anagen, displastici e in fase telogen, è stata eseguita la misurazione del diametro soprabulbare (µm) dei capelli in anagen e dell'AMP ciclico estraibile dai bulbi piliferi in anagen (RIA, NEN Chemicals, pmol/capello). Sono state adoperate analisi accessorie per individuare la frequenza assoluta di ciascun parametro. Il confronto biometrico fra placebo e soluzione attiva, indica una forte tendenza in favore della seconda (TMX 0,1%), mentre un aumento di TMX (0,5%) non conferma tale tendenza. I parametri più significativi sono stati: diametro dei capelli ( $p=7\%$ ), il rapporto A/T ( $p=15\%$ ) e il rapporto A+D/T ( $p=15\%$ ). Tali criteri possono essere di aiuto nell'anticipare tentativi terapeutici, prima che si evidenzino macroscopicamente un risultato positivo.

### Introduzione

Uno degli aspetti più importanti della medicina estetica, è quello di poter preservare i capelli in caso di una disposizione genetica all'alopecia androgenica. Capelli di



be preserved therapeutically by means of various effective principles. The inhibition of the activity of the 5- $\alpha$ -reductase and thus the reduction of the 5- $\alpha$ -dihydrotestosterone and other 5- $\alpha$ -reduced testosterone metabolites in the hair follicle would make it possible, according to the present knowledge, to preserve the hair in those areas of the capillitium that are threatened by androgenic alopecia (14). A systemic inhibition of the 5- $\alpha$ -reductase is not feasible in the case of male individuals, as this enzyme system is relevant to all androgen-related tissue.

The clinical significance of the local application of inhibitors under 5- $\alpha$ -reductase has not yet been established (15). Another anti-androgenic therapeutic measure would be the blocking of the receptor proteins for androgenic hormones. Again, the systemic application in males is impossible in connection with the indication under discussion; the local application e.g. of the receptor blocker cyproterone acetate is also unfeasible (21).

Influencing the intracellular «second messenger» cAMP by local therapeutical measures, using non-hormonal substances that can be assessed in terms of their toxicity, is an alternative to hormone therapy, which is accompanied by a large number of side effects (5, 17). Cyclical AMP inhibits the proliferation of the G1 and G2 phases of the cell cycle (19). High concentrations of cAMP counteract the cell division, and thus also the division of the hair follicle cell (1, 3). Cyclical AMP is produced in the cell from ATP, with the enzyme adenylcyclase acting as agent, and is further divided under the influence of phosphodiesterase (7, 8, 9, 10). The intracellular cAMP-level is regulated by the activity of these two enzyme systems. Since the male hormone testosterone inhibits the activity of the adenylcyclase, via its 5- $\alpha$ -regulated metabolites, and

un adulto destinati a trasformarsi in lanugine in seguito allo stimolo androgenico, ed infine ad andare perduti, si possono proteggere con diversi principi attivi. Secondo le conoscenze attuali, l'inibizione della attività della 5- $\alpha$ -reduttasi e la conseguente riduzione del 5- $\alpha$ -diidrottestosterone e degli altri metaboliti del testosterone 5- $\alpha$ -ridotti nel follicolo pilifero, offrirebbe la possibilità di salvare i capelli in quelle zone del capillizio minacciate dall'alopecia androgenica (14). Non è possibile effettuare un'inibizione sistemica della 5- $\alpha$ -reduttasi nel caso di individui di sesso maschile, poiché questo sistema enzimatico è presente in tutti i tessuti androgeno-dipendenti.

Non è stata ancora accertata (15) l'importanza clinica della applicazione locale degli inibitori della 5- $\alpha$ -reduttasi. Un'altra misura terapeutica anti-androgenica consisterebbe nel blocco delle proteine recettori degli androgeni. Anche in questo caso comunque, è impossibile l'uso per via sistemica in soggetti di sesso maschile con l'indicazione qui trattata; è altrettanto inattuabile, ad esempio, l'applicazione locale del ciproterone acetato, che blocca i recettori (21).

Un'alternativa alla terapia ormonale consiste nell'agire sul «secondo messaggero», e cioè sull'AMP ciclico, con misure terapeutiche locali, adoperando sostanze non ormonali di cui si può controllare la tossicità; infatti la terapia ormonale comporta una serie cospicua di effetti collaterali (5, 17). L'AMP ciclico inibisce la proliferazione delle fasi G1 e G2 del ciclo cellulare (19). Alte concentrazioni di cAMP ostacolano la divisione cellulare, e di conseguenza anche la divisione delle cellule del follicolo pilifero (1, 3). L'AMP ciclico viene prodotto nella cellula a partire dall'ATP, attraverso l'azione dell'enzima adenilclasi (in seguito all'intervento della fosfodiesterasi va soggetto ad una ulteriore divisione) (7, 8, 9, 10). Il livello di AMP



thus prevents the formation of cAMP in the cell, the inhibition of the phosphodiesterase for the purpose of counter-regulation is obvious (1, 17).

The effect of the testosterone metabolites responsible for androgenic hair loss could be offset by the opposite effect on the cAMP system (17). One precondition for the application of this hypothesis for local therapy in male pattern alopecia is the assumption of a finite number of hair cycles each hair root goes through in the areas that are relevant in androgenic alopecia. Only then is the preservation of hairs explained by the inhibition of cell proliferation and the reduction of mitosis by high intracellular cAMP levels, respectively, i.e. by the lengthening of the anagenic phases.

Furthermore, potent inhibitory substances of the phosphodiesterase must be available for local application.

Caffeine and the other methylxanthine, theophylline and theobromine have long been known as inhibitory substances of the phosphodiesterase (2, 18). Caffeine is a secure inhibitor of the phosphodiesterase on human skin, its effects being greater than theophylline (9, 10). Caffeine also penetrates well through the skin (4).

## Materials and Methods

In our study, we tried to come to conclusions regarding the significance of this therapeutic principle for the preservation of hair in cases where male pattern alopecia is developing, by applying topical preparations containing trimethylxanthine of the hairy heads of male probands. 30 male probands aged between 21 to 30 years participated in the study. Historically and clinically the picture of beginning or advanced androgenic alopecia in stage I to II, according to Rook, was presented in each case.

ciclico intracellulare viene regolato dall'attività di questi due sistemi enzimatici. Poiché l'ormone maschile testosterone inibisce l'attività dell'adenilciclasi attraverso i suoi metaboliti 5-alfa-regolati e di conseguenza impedisce la formazione dell'AMP ciclico nella cellula, è evidente l'inibizione della fosfodiesterasi per controregolazione (1, 17). L'effetto dei metaboliti del testosterone, responsabile della perdita di capelli da androgeni, potrebbe essere controbilanciato dall'effetto opposto sull'AMP ciclico (17). Condizione preliminare perché tale ipotesi venga applicata alla terapia locale in caso di alopecia di tipo maschile, è l'assunzione che ogni radice del capillizio vada soggetta ad un numero fisso di cicli cellulari nelle zone che sono significative in caso di alopecia androgenica. Solo così la conservazione dei capelli si spiega con l'inibizione della proliferazione cellulare e la riduzione delle mitosi tramite alti livelli di AMP ciclico, ovvero con l'allungamento delle fasi anagen. Inoltre per l'applicazione locale bisogna avere a disposizione potenti inibitori della fosfodiesterasi.

La caffeina e le altre metilxantine, teofilina e teobromina, sono note da tempo come sostanze inibitrici della fosfodiesterasi (2, 18). La caffeina è un sicuro inibitore della fosfodiesterasi, con effetti superiori alla teofilina (9, 10). La caffeina possiede anche un buon coefficiente di penetrazione nella cute (4).

## Materiali e metodi

Nel nostro studio abbiamo tentato di giungere a conclusioni significative su questo principio terapeutico, per la protezione dei capelli nel caso in cui si stia manifestando una alopecia di tipo maschile, con l'applicazione di preparati topici a base di trimetilxantina sui capelli dei soggetti in esame. Hanno preso parte



3 preparations were available: for the placebo group, an alcoholic hair lotion with no active agent added (A); an alcoholic hair lotion containing 0.5% trimethylxanthine (B), and an alcoholic hair lotion containing 0.1% trimethylxanthine (C).

The 30 probands were prospectively allocated to the three treatment groups in chronological order, following a randomisation plan. The presentations of the different hair lotions were identical and could not be distinguished either by the attending physician or the proband, based on packaging, color, or smell. Thus, the requirements for a double-blind study were fulfilled.

The probands applied the alcoholic hair lotion once daily to the regions of the hairy head affected or threatened by androgenic alopecia, i.e. the frontotemporal regions on both sides, the centroparietal as well as the occipital parts of the capillitium over a period of 16 weeks.

The lotion was applied every morning at the same time.

One week before treatment was started and during the period of treatment, all probands used a standardised shampoo for the required two weekly hairwashes. At the time zero, after 2 weeks, and after 16 weeks, hairs were extracted from each proband at the same time in the morning (usual trichogram technique using clip and jolting epilation) (6). Before each of the three trichogram dates, the probands had not washed their hair for 5 days.

The extraction was done in the centroparietal region of the capillitium. In each extraction, an area of 1 cm<sup>2</sup> was depilated using a pattern; the block of hair was depilated in two portions which were then placed together between microscopic slides. The second and third trichograms were performed next to the previously depilated area (Figure 1).

Shortly after the hairs were extracted, the status of the hair root was natively de-

allo studio 30 soggetti maschi di età compresa fra i 21 e i 30 anni. Per ogni caso è stata presentata anamnesi e storia clinica dell'alopecia androgenica iniziale o allo stadio avanzato I e II secondo Rook. Erano disponibili 3 preparazioni: per il gruppo placebo, una lozione alcolica per capelli, priva di principio attivo (A); inoltre una lozione contenente trimetilxantina allo 0,5% (A); ed un'altra che conteneva trimetilxantina allo 0,1% (C). I 30 soggetti in esame venivano distribuiti fra i tre gruppi in ordine cronologico, secondo un piano di randomizzazione. Le lozioni avevano una presentazione identica, e né il medico esaminatore né il soggetto erano in grado di distinguerle salvo che per il tipo di confezione, colore oppure odore. Di conseguenza venivano soddisfatte le condizioni di uno studio a doppio cieco.

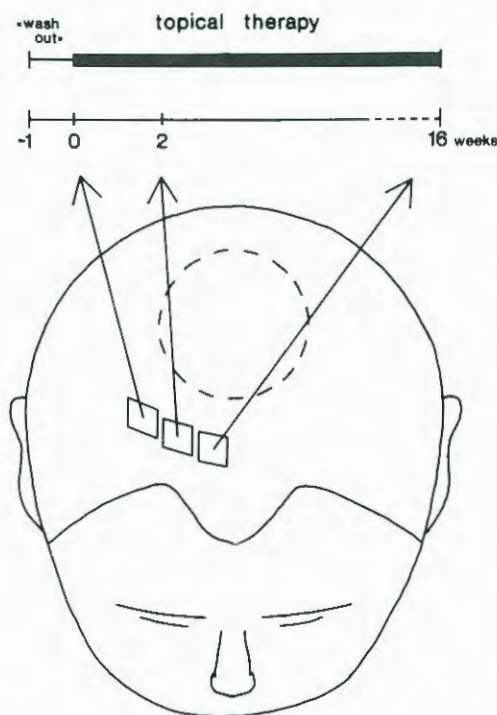
I pazienti applicavano la lozione alcolica una volta al giorno sulle regioni del capo colpite o minacciate dall'alopecia androgenica, vale a dire le regioni frontotemporal di entrambi i lati, la centroparietale come pure le zone occipitali del capillizio, per un periodo di 16 settimane. La lozione veniva applicata ogni mattina alla stessa ora. Una settimana prima dell'inizio e durante il trattamento, tutti i soggetti in esame adoperavano uno shampoo standardizzato per i due lavaggi settimanali richiesti.

All'inizio, dopo due settimane e dopo 16 settimane, ad ogni soggetto venivano prelevati alcuni capelli alla stessa ora del mattino utilizzando l'usuale tecnica del tricogramma (6). Prima di ciascuno dei tre tricogrammi, i soggetti interrompevano il lavaggio dei capelli per cinque giorni. Il prelievo veniva effettuata nella regione centroparietale del capillizio. Per ogni prelievo veniva depilata una zona di 1 cm<sup>2</sup>, secondo uno schema predeterminato; il gruppo di capelli prelevati da due porzioni venivano successivamente mes-

terminated. Then, the diameter of the complete anagen hairs was measured over the bulbs. The analysis of the status of the hair root also produced the total number of depilated hairs per  $\text{cm}^2$ . The complete anagen hairs were then singled out and the respective anagen roots were then analyzed for cAMP. This analysis is effected by means of a commercial radioimmunoassay kit after a lyophilised extract has been made. The time between obtaining the parameters visible by optical microscopy and homogenisation of the anagen hair roots was approx. 45 min.

se insieme tra i vetrini. Il secondo e il terzo tricogramma veniva eseguito accanto alla zona precedentemente depilata (Fig. 1).

Poco dopo il prelievo dei capelli, veniva controllata la condizione della radice all'origine. Successivamente veniva misurato il diametro al disopra dei bulbi di tutti i capelli in anagen. L'analisi della condizione delle radici forniva anche il totale dei capelli depilati per  $\text{cm}^2$ . Tutti i capelli in anagen venivano poi isolati e si analizzavano le rispettive radici in anagen per quantizzare l'AMP ciclico. Questa



**Fig. 1:** Trichogram areas and time schedule of the study

**Fig. 1:** Zona del Tricogramma e schema del prelievo



Table I

**Measuring criteria**

|                                    |
|------------------------------------|
| Diameter of anagen hairs           |
| Anagen/telogen                     |
| Anagen + dysplastic/telogen        |
| Anagen + dysplastic/total hairs    |
| Total hairs per cm <sup>2</sup>    |
| cAMP contents per anagen hair root |

**Statistical Evaluation**

Target variables were determined from the following parameters: anagen hairs, dysplastic hairs, telogen hairs, total hairs per cm<sup>2</sup>, median suprabulbar diameter of anagen hairs, and cAMP concentration per anagen hair follicle (Table I).

The criteria for successful preservation of hairs were: Success, provided that the 2-week value and the 16-week value exceeded the initial value.

Progressive success, provided that the 2-week value exceeded the initial value, and the 16-week value exceeded the 2-week value.

Failure was defined as the reversal of the conditions named. The statistical evaluation is an outline analysis merely concerned with relative changes. The group comparison of the preparations A, B, and C did not lead to any statistically secured conclusions, as the number of cases studied was insufficient, but it was nevertheless possible to observe trends in the way of explorative analysis (Table II).

analisi veniva eseguita sull'estratto liofilizzato, utilizzando un kit di radioimmunosaggio commerciale. Il tempo intercorrente tra il conseguimento di parametri visibili con la microscopia ottica e l'omogenizzazione delle radici in anagen, era all'incirca di 45 minuti.

**Valutazione statistica**

Obiettivi variabili sono stati determinati con i seguenti parametri: capelli in anagen, capelli displastici, capelli in telogen, totale dei capelli per cm<sup>2</sup>, diametro soprabulbare medio dei capelli in anagen, e concentrazione di cAMP per ciascun follicolo di capelli in anagen (Tabella I). I risultati venivano considerati positivi nel caso che il valore dopo 2 settimane e dopo 16 fosse superiore al valore iniziale. Veniva, inoltre, considerato positivo il risultato quando il valore a 2 settimane risultava superiore a quello iniziale e quando il valore a 16 settimane era superiore al dato ottenuto a 2 settimane.

Come esito negativo veniva considerato

Table II

| Measuring Criteria  | Trend | Error Probability |
|---------------------|-------|-------------------|
| Diameter            | +++   | 7%                |
| A / T               | ++    | 15%               |
| A + D / T           | ++    | 15%               |
| A + D / Total hairs | ++    | 15%               |
| Total hairs         | —     | —                 |
| cAMP contents       | —     | —                 |

Preparation A (placebo) is associated with negative values when the relative changes of the measured absolute frequencies per proband and per parameter are considered. The difference in effect between the placebo preparation A and the verum preparation C is greater than that between the placebo preparation and the verum preparation B. An evaluation of the 6 target parameters or measuring criteria in terms of their separating power between the placebo preparation A and the verum preparation C was also possible. A contingency table was drawn up and evaluated by means of the exact one-sided Fisher test. According to tendency, the difference between placebo A and verum C is greatest in the measurement of the mean suprabulbar hair diameter ( $p = 7\%$ ). As indicator variable, this parameter is superior, in terms of preservation of hair, to the variables anagen/telogen-ratio, growth hair/telogen-ratio, and growth rate. The parameters «total hairs per  $\text{cm}^2$ » and «cAMP concentration» present no tendency (16).

## Discussion

Starting out from the hypothetic regulation of hair cycles by cAMP according to Stüttgen and Schäfer (5, 17), we investigated in this study the influence of a topical preparation containing trimethylxanthine on the dynamics of androgenic alopecia in males. Until now, clinical-therapeutical studies of androgenic alopecia have been limited to mostly subjective criteria or the calculation of the anagen/telogen-ratio in the trichogram (11). We tried to come to farther-reaching conclusions by measuring absolute frequencies and using different parameters in trichograms of a defined area. Due to insufficient number of cases, no secured statistical conclusions could be

l'inverso. La valutazione statistica è un'analisi schematica che tiene conto di semplici alterazioni relative. Il confronto di gruppo delle preparazioni A, B e C non ha portato ad alcuna conclusione statistica significativa poiché è stato probabilmente insufficiente il numero dei casi presi in esame, ciò nonostante, è stato possibile notare delle tendenze nel corso dell'analisi esplorativa (Tabella II).

La preparazione A (placebo) si associa a valori negativi, quando vengono considerati i cambiamenti relativi delle frequenze assolute misurate per soggetto in esame e per parametro. In realtà la differenza tra la preparazione placebo A e la preparazione attiva C era superiore a quella tra placebo e preparato attivo B. È stata anche possibile una valutazione dei 6 parametri bersaglio, o criteri di misurazione, in termini del loro potere discriminativo tra il preparato placebo A e il preparato attivo C. È stata anche elaborata una tavola di contingenza e valutata secondo il test unidirezionale di Fisher. In accordo con la tendenza, la differenza tra il placebo A e la soluzione attiva C risulta maggiore, per quanto riguarda la misura del diametro soprabulbare medio ( $p = 7\%$ ). Come indicatore variabile, tale parametro è superiore, in termini di conservazione dei capelli, alle variabili anagen/telogen, crescita di capelli/telogen e al tasso di crescita. I parametri «capelli totali per  $\text{cm}^2$ » e «concentrazione di AMP ciclico» non presentano alcuna tendenza (16).

## Discussione

Partendo dalla regolazione ipotetica dei cicli del capello da parte dell'AMP ciclico secondo Stüttgen e Schäfer (5, 17), in questo studio abbiamo esaminato l'influenza di un preparato topico contenente trimetilxantina, sulla dinamica dell'alopecia androgenica dell'uomo. Fino ad



reached in the biometric evaluation of the results; the observed tendencies do, however, provide worthwhile starting points for more detailed analyses of the influence of trimethylxanthine applied locally to anagen hair roots. The positive effect of the verum preparation C in comparison with placebo A was observed, above all, in the analysis of the measuring results of the mean suprabulbar diameter of anagen hairs. The suprabulbar measuring site was chosen to enable us to objectify potential changes already after 2 weeks; the terminal hair to the capillitium grows daily by approx. 0.35 mm (12). The anagen/telogen-ratio and the number of growth hairs, i.e. the anagen and dysplastic hairs, presents a comparable behavior.

We followed the usual interpretation and considered the so-called dysplastic hairs as anagen hairs sticking particularly firmly, which are altered accordingly by mechanical depilation. In terms of the density of hair and the cAMP concentration per anagen hair root no change in the number of capillitium in the same region was to be expected in the course of a 16-week therapy study. On the other hand, the cAMP determination is difficult because of the low tissue level (20). Moreover, an active mechanism of trimethylxanthine, which cannot be derived from the present cAMP content of the hair follicle cell, must be discussed.

As the male pattern alopecia is accompanied by lanugo transformation and thus also by a gradual reduction of the diameter of the individual anagen hair (13), the potential increase of the suprabulbar hair diameter under topical preparations containing trimethylxanthine is of special interest. The influence on the proportion of the telogen hairs in favor of the growth hairs makes a further securing of the results desirable.

This requires, above all, a greater num-

ora gli studi terapeutici sulla alopecia androgenica, si sono limitati a criteri per lo più soggettivi oppure al calcolo del rapporto anagen/telogen nel tricogramma (11). Si è tentato di ottenere conclusioni più ampie, misurando le frequenze assolute ed adoperando parametri diversi nei tricogrammi di una determinata zona. Per la carenza di casi non è stato possibile ottenere conclusioni statistiche significative sulla valutazione biometrica dei risultati; comunque, le tendenze osservate forniscono punti di partenza interessanti per analizzare più dettagliatamente l'azione svolta dalla trimetilxantina quando venga applicata localmente alle radici dei capelli in anagen. È stato notato l'effetto positivo del preparato attivo C rispetto al placebo A, in particolare nell'analisi dei risultati riferiti alle misurazioni del diametro soprabulbare medio dei capelli in anagen. La zona soprabulbare è stata scelta per consentirci di individuare modificazioni potenziali già dopo 2 settimane; la crescita giornaliera della parte terminale del capello è di circa 0,35 mm (12). Il rapporto anagen/telogen, e il numero dei capelli in crescita, cioè i capelli in anagen e displastici, hanno un comportamento confrontabile. Abbiamo seguito l'interpretazione convenzionale ed abbiamo considerato i cosiddetti capelli displastici come capelli in anagen particolarmente aderenti, alterati in seguito alla depilazione meccanica. In termini di densità di capelli e di concentrazione di AMP ciclico per radice in anagen, non ci si attendeva alcuna variazione quantitativa dei capelli nella stessa regione, durante lo studio terapeutico di 16 settimane. D'altra parte, la determinazione dell'AMP ciclico è complicata dal basso livello tissutale presente (20). Si deve inoltre esaminare un meccanismo attivo della trimetilxantina, che non può derivare dal contenuto di AMP ciclico presente nella cellula del follicolo pilifero.

ber of cases to be studied (25 probands per treatment group). Moreover, under biodynamic aspects of hair growth long treatment and study periods are indicated. The extension of the conventional trichogram by new parameters has facilitated the evaluation of topical preparations in androgenic alopecia.

Poiché l'alopecia di tipo maschile è accompagnata dalla trasformazione della lanugo e di conseguenza anche dalla riduzione graduale del diametro di ogni singolo capello in anagen (13), assume interesse particolare l'aumento potenziale del diametro soprabulbare in seguito all'uso di preparati topici contenenti trimetilxantina. Un'ulteriore garanzia di ottenere i risultati auspicati, è offerta dalla variazione dei capelli in telogen, a favore dei capelli in crescita.

Ciò richiede soprattutto un maggiore numero di casi da prendere in esame (25 soggetti per gruppo di trattamento). Inoltre secondo l'aspetto biodinamico della crescita dei capelli, sarebbero necessari lunghi periodi di trattamento e di studio. L'estensione del tricogramma convenzionale con nuovi parametri, ha semplificato la valutazione dei preparati topici nell'alopecia androgenica.

**\* Reprint request to:**

Dr. W. G. Seiler, Hautklinik am Klinikum Mannheim  
Postfach 23 D-6800 Mannheim





## REFERENCES

1. Adachi K., Takayasu S., Takashima I., Kano M., Kondo S. (1970): Human Hair Follicles: Metabolism and Control Mechanisms. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **23**: 901-924.
2. Chopra D.P. (1977): Effects of Theophylline and Dibutyl cyclic AMP on Proliferation and Keratinization of Human Keratinocytes. *Br. J. Dermatol.* **96**: 255-262.
3. Delescluse C., Colburn N.H., Duell E.A. (1974): Cyclic AMP-elevating agents inhibit proliferation of keratinizing guinea pig epidermal cells. *Differentiation* **2**: 343-350.
4. Feldmann R. J., Maibach H.J. (1970): Absorption of some organic compounds through the skin in man. *J. Invest. Dermatol.* **54**: 399-404.
5. Lischka G. (1979): Haare im Alterswandel. *Akt. Dermatol.* **5**: 101-106.
6. Meiers H.G. (1975): Trichogramm; Methode und Aussagefähigkeit. *Akt. Dermatol.* **1**: 31-32.
7. Mier P.D., Urselmann E. (1970): The adenylcyclase of skin. 1. Measurement and properties. *Br. J. Dermatol.* **83**: 359-363.
8. Mier P.D., Urselmann E. (1970): The adenylcyclase of skin. 2. Adenylcyclase levels in atopic dermatitis. *Br. J. Dermatol.* **83**: 364-366.
9. Mier P.D., Holla S.W.J. (1972): Hollmann E.P.M.J., v.d. Staak W.J.B.M., Urselmann E., Warndorff J.A.: Adenosine 3,5-cyclic monophosphate phosphodiesterase in skin. *Br. J. Dermatol.* **86**: 147-149.
10. Mier P.D., Urselmann E. (1972): Adenosine, 3,5-cyclic monophosphate phosphodiesterase in skin. 1. Measurement and properties. *Br. J. Dermatol.* **86**: 141-146.
11. Orfanos C.E., Vogels L. (1980): Lokaltherapie der Alopecia androgenetica mit  $17\alpha$ -Östradiol. *Dermatologica* **161**: 124-132.
12. Orfanos C.E., Brückmann L. (1982): Messungen der Haardichte an normaler menschlicher Kopfhaut mit und ohne kosmetische Vorbehandlung. *Akt. Dermatol.* **8**: 222-224.
13. Pecoraro V., Astore J.P.L. (1979): Messungenge des Haarwachstums. In: *Haar und Haarkrankheiten*. Hrsg. C.E. Orfanos. pp. 205-237, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
14. Rushton H., James K.C., Mortimer C.H. (1983): The unit area trichogramm in the assessment of androgen-dependent alopecia. *Br. J. Dermatol.* **109**: 429-437.
15. Schwarz W., Schell H., Horstein O.P., Bernlocher W., Weghorn C. (1981): Variations of cAMP in Epidermis and Plasma of Male Adult Subjects. *Dermatologica* **162**: 230-235.
16. Seiler W.G. (1981): Möglichkeiten zur Haarerhaltung und zur Bekämpfung von Schuppen und Seborrhoe im Bereich des Capillitium. *Akt. Dermatol.* **7**: 51-59.
17. Seiler W.G. (1983): Der Haarfollikel als Modell. *Ärztl. Kosmetol.* **13**: 409-412.
18. Stüttgen G., Schäfer H. (1977): Biochemische Gesichtspunkte zur Regulation der Haarzyklen. *Ärztl. Kosmetol.* **7**: 131-133.
19. Stüttgen G., Neumann D. (1980): Coffein und Haut. *Ärztl. Kosmetol.* **10**: 163-187.
20. Teasdale D., Philippen H., Blankenburg G. (1981): Querschnittparameter von Humanhaaren. Teil 1: Grundlagen und Meßtechniken. *Ärztl. Kosmetol.* **11**: 161-170.
21. Teasdale D., Schlüter R., Blankenburg G. (1981): Querschnittparameter von Humanhaaren. Teil 2: Die Anwendung der Meßtechniken. *Ärztl. Kosmetol.* **11**: 252-259.
22. Teasdale D., Philippen H., Schlüter R., Meichelbeck H., Blankenburg G. (1982): Querschnittparameter von Humanhaaren. Teil 3: Messungen an europäischen und japanischen Haarmustern. *Ärztl. Kosmetol.* **12**: 425-433.
23. Voorhees J.J. (1982): Commentary: Cyclic Adenosine Monophosphate Regulation of Normal and Psoriatic Epidermis. *Arch. Dermatol.* **118**: 869-874.
24. Yoshikawa K., Adachi K., Levine V., Halprin K.M. (1975): Micro-determination of cyclic AMP levels in human epidermis, dermis and hair follicles. *Br. J. Dermatol.* **92**: 241-248.
25. Wendt H., Hasan S.H., Heinze I., Täuber U. (1982): Systemische Wirkungen einer lokalen Antiandrogenbehandlung. *Arch. Derm. Res.* **273**: 171.

## To make art

BRUNO LISI

## To live or to survive?

To live scientific reality means to be involved in the latest revolution human history is proposing to us.

«Endorfine» (peptiti oppioidi) are probably the molecules able to control sorrow and delight. Therefore, are men of science going to supervise our emotion? Does «to make art» mean to prime mechanisms that will be programmed in future (in opposition to the science which reproduces events)?

I think «to make art» (going beyond professional abilities, which cannot be disregarded) means to live alternatively, by refusing and fighting impositions, and so to live «the madness» that creates man, the demigod who, managing himself, might refuse his being manipulated by anticipating it through his growth.

The man's fear of leaving his well-known comforts, in order to go beyond his condition to enter the centrifugal dimension of growth (even if in the middle of contradictions and mistakes) always inhibited human evolution because of the dualistic mechanism of existence it undergoes.

But the only actual opportunity of being in and for life is to act by «searching» that potential stimulus which induced men to their emotional creativity (in the mechanisms of consequences).

I think the question is: to live or to survive? That is to survive and passively undergo, or to live and be aware of one's own presence?

Vivere la realtà scientifica è partecipare all'ultima rivoluzione che la storia dell'uomo ci propone.

Le «Endorfine» (peptiti oppioidi) sembrerebbe siano le molecole che hanno il compito di mediare il dolore e il piacere.

Dunque gli scienziati manipoleranno le emozioni?

«Fare arte» è innescare (in contrapposizione alla scientificità che riproduce l'evento) meccanismi che nel prossimo futuro potranno essere programmati?

«Fare arte» ritengo sia (andando oltre la professionalità, che rimane comunque imprescindibile) vivere alternativamente, rifiutando e combattendo l'imposizione, quindi vivere la «follia» che crea l'uomo, il semidio che autogestendosi forse potrebbe rifiutare la sua manipolazione, anticipandola nella crescita.

La paura dell'uomo di lasciare il comodo già conosciuto per superare la condizione di appartenenza entrando nella dimensione «centrifuga» di crescita (se pure all'interno di contraddizioni ed errori) è da sempre il freno all'evoluzione che subisce i meccanismi dualistici dell'esistenza.

Ma agire «rovistando» in quel potenziale che ha indotto l'uomo all'emotività creativa (nei meccanismi di conseguenze) è l'unica possibilità attuale di essere, nella e per la vita.

Il problema credo sia, vivere o sopravvivere? Sopravvivere subendo passivamente o vivere partecipando coscientemente?



«To make art» is also to accept scientific reality by living it without being dominated by it; it means to live an alternative life in the inevitability of current mechanisms.

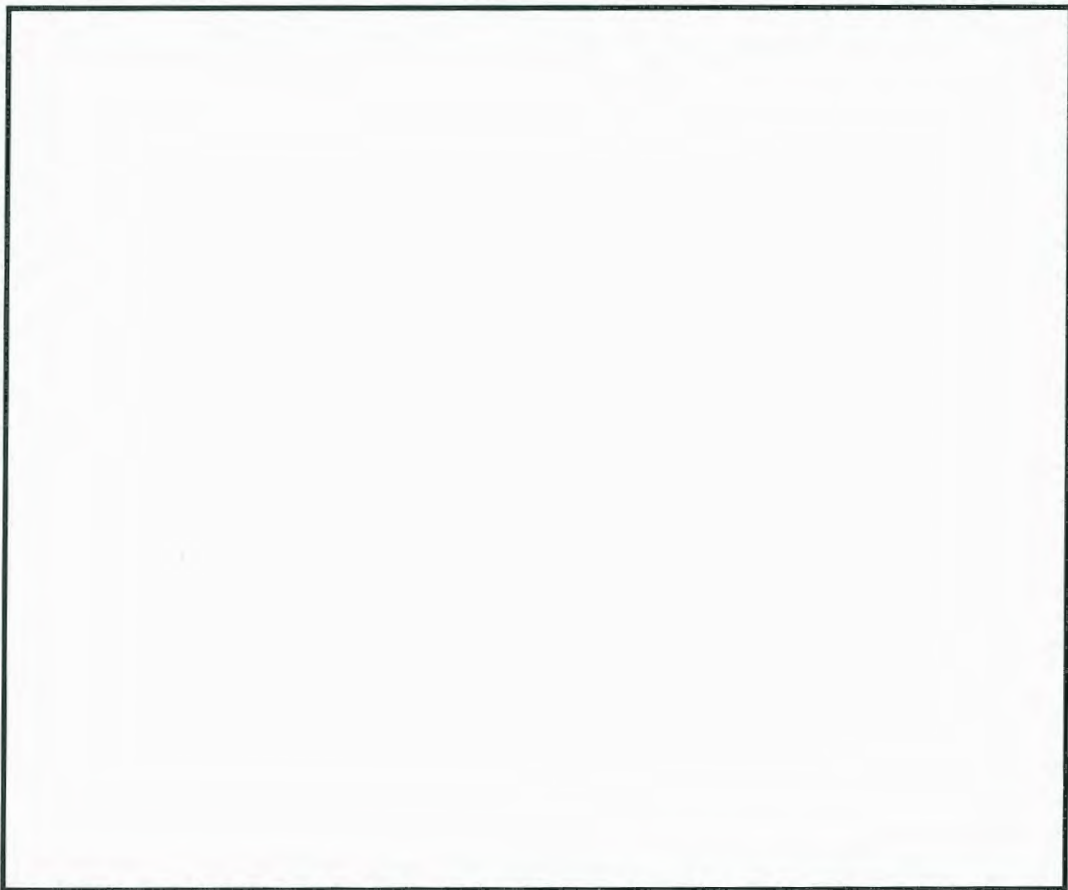
In the near future scientists are going to supervise the chemistry of our thoughts (as they are already doing); therefore to day more than yesterday «to make art» is one of the opportunities of growth to our life.

Rome, November 10, 1984

«Fare arte» vivendo alternativamente nella inevitabilità dei meccanismi contemporanei, è anche accettare la realtà scientifica vivendola senza subirla.

Nel prossimo futuro gli scienziati manipoleranno (come sembra stiano facendo) la chimica del pensiero; oggi dunque, il «fare arte» è più di ieri, una delle possibilità di crescere per la vita.

Roma 10 novembre, 1984



**Antonio Tosti.** — «*Dermatologia nella pratica clinica*». Editore A. Delfino, Roma 1984, 343 pagine, 273 foto. L. 120.000

A new text has been added to the multitude of dermatology manuals which continue to be ceaselessly produced, but one which is distinguished by its aristocratic presentation that recalls the medicine of another time.

Each of the forty-five topics covered are discussed as if the readers were called in for consultation with the patient and invited to contribute their own «ratio», «humanitas», and «humilitas».

It is certain that the book will have a formative impact on future generations of young dermatologists who risk falling into the anonymity of mass medicine: it is in fact a clear invitation to practice true and genuine medical professionalism with wisdom and humanity rather than mechanical automatism.

A precise clinical discussion is presented but also made enjoyable by historical references to dermatologists, naturalists, poets, cardinals, navigators, pontiffs, monarchs,..., who were all involved for various reasons in dermatologic nosology. Illustrations and diagrams are neat and detailed — never superficial to the subtle aspects which they intend to demonstrate. They render each case interesting and pertinent which I consider to be exactly the author's objective.

The lay out is one of prestige and reflects the value of its content. It is hoped that Tosti will continue his valuable work in a future volume.

Nella moltitudine di manuali di Dermatologia, che continuano a proliferare senza soste, giunge ora questo nuovo testo, ma per occupare con autorità un posto di riguardo per la sua aristocratica impostazione, che ci dona il gradevole sapore di una Medicina d'altri tempi.

In ognuno dei 45 argomenti trattati, sembra di essere chiamati tutti in consulto davanti al paziente, sul quale ciascuno di noi è invitato a portare il contributo della propria «ratio», della propria «humanitas», della propria «humilitas».

Non sfugge, certamente, il significato formativo per le generazioni di giovani dermatologi che potranno cadere nell'anonimato del vortice incontrollabile della medicina mutualistica: è infatti una chiara esortazione a vivere con sapienza umana, anziché con meccanicistici automatismi, la vera e schietta professionalità medica. Il rigore della discussione clinica si svolge piacevolmente fra richiami storici di dermatologi, naturalisti, poeti, cardinali, navigatori, condottieri, pontefici, monarchi,..., tutti coinvolti, per varie ragioni, nella nosologia dermatologica.

La documentazione iconografica, nitida ed altamente dimostrativa, mai superficiale per i risvolti che intende manifestare, rende vivo e pertanto sempre presente ogni caso da discutere ed è proprio questo, ritengo, lo scopo che si è prefisso di raggiungere l'Autore.

La veste tipografica è quella dei libri di pregio e quindi giustamente consone al valore del contenuto.

È auspicabile che Tosti continui l'avvincente discorso in un prossimo volume.

S.D. Randazzo



**Journal of Applied Cosmetology and  
UNIPRO** (Italian Perfumery and Cosmetic Industries Association)  
and Fondazione Pro Ricerca Dermatologica



## International Meeting on

## A new look at old skin: a challenge to Cosmetology Rome: March 7/8/9, 1985

**President:** W. Montagna

**Organizer:** P. Morganti

### SCIENTIFIC PROGRAMME

#### Thursday, 7 march

- Welcome (P. Morganti-Catholic Univ. of Rome) Italy
- Opening remarks (F. Serri-Catholic Univ. of Rome) Italy
- Introductory remarks (W. Montagna-Oregon Health Sciences Univ.) Usa.

#### Keynote Addresses:

- The Problems of the Aged (R. Butler - The Mount Sinai Medical Center of New York) Usa
- The Challenge to Cosmetology. (G. Kalopissis and J.L. Leveque - L'Oreal Research Center, Paris.) France.

#### I Session: Aging General

- Aging and nutrition (M. Proja-Univ of Siena) Italy
- Aging and Exercise (M. Boni-Univ. of Pavia) Italy
- The Psychological Problems of Aging and Aging Skin (E. Panconesi-Univ. of Florence) Italy
- Old Age and Memory (E. Manni-Catholic Univ. of Rome) Italy
- Aging of Brain and Skin: A Common Mechanism? (M. Trabucchi-2° Univ. of Rome) Italy.

#### II Session: Aging of Skin: Anatomy, Physiology and Biochemistry

- Common Structural Changes in Aging Human Skin (W. Montagna-Oregon Health Sciences Univ. - Portland) Usa
- An Overview of Physiological Changes (B.A. Gilchrest-Tufts Univ. Boston) USA.
- Physiological Changes (D. Cerimele, S. Saccabusi-Univ. of Sassari) Italy
- The Skin as Homeostatic Compartment of the Body (G. Esposito-Univ. of Milan) Italy
- Biochemical Changes (J.P. Bentley-Oregon Health Sciences Univ. - Portland) Usa
- Biochemistry of the Skin: Structural and Functional Aspects (B. Berra Univ. of Milan) Italy
- Biophysical Approach of Skin Ageing (J. Leveque - L'Oreal Research Center, Paris) France
- Immunological Changes in Aging Skin (A. Giannetti-Hosp. of Como) Italy
- Aging Changes in Mucous Membranes (A. Jarrett-Univ. of London) Great Britain
- Changes in Cutaneous Appendages (F.J.G. Ebling Univ of Sheffield) Great Britain
- Sebum Secretion Rates in Relation to Age: A New Look (J.S. Strauss-Univ. of Iowa) USA
- Changes in Cutaneous Lipids (S. Passi-S. Gallicano Hosp. of Rome) Italy
- The Vasculature of the Skin in Old Age (T.J. Ryan - Univ. of Oxford) Great Britain
- Aging Changes in the Cutaneous Pigmentary System (M. Nazzaro-Porro, S. Gallicano-Hosp. of Rome) Italy

### Friday, 8 March

#### III Session: Medical Problems of Aging Skin

- Molecular Basis of Cutaneous Aging (N. Loprieno-Univ. of Pisa) Italy
- Pharmacology and the Aging Cutaneous System (R. Paoletti-Univ. of Milan) Italy
- Sunlight, Age and Skin Cancer (Van der Leun-Univ. of Utrecht) The Netherlands
- Aging, Skin and Sun Damage (F. Serri and L. Celleno-Catholic Univ. of Rome) Italy
- A Skin Replacement Matrix Interaction with Young and Old Skin (E. Piness, L. Bolton and D.T. Rovee-Johnson & Johnson Research Center, New Brunswick) USA
- A Review of the medical and Surgical Measures Available for Aging Skin (S. Maddin Columbia Univ, Vancouver) Canada
- Extensive Facial Reconstruction and the Need of Cosmetological Approaches (G. Micali-Univ of Catania) Italy

#### IV Session: Old Skin: Cosmetic Approach

- Cosmetological Perspectives for the Aged (L. Muscardin and P. Morganti - IDI Hosp. and Catholic Univ. of Rome) Italy
- Effect of Essential Fatty Acids on Aged Skin (P. Morganti and S.D. Randazzo Catholic Univ. of Rome, Univ. of Catania) Italy
- The Cosmetic Maneuver in Elderly Women (A. M. Kligen - Univ. of Pennsylvania) USA
- Cleansing and Prophylactic Measures for Aging Skin (W. Raab-Allergic Clinic, Wien) Austria
- Improved Protective Cosmetic Preparations for Aged Skin (G. Erlemann - Givaudan Research Center, Geneva) Switzerland
- Single-Product Therapeutic Cosmesis for Aging Skin (B. James-James Clinic Perrysburg) USA
- Cosmetic Wrinkle Smoothing (A. Meybeck, Parfums Christian Dior, Paris) France

### Saturday, 9 March

- Influence of UV-Light on Natural Skin Ageing in Hairless Mice (A. Fourtanier, C. Berrebi, N. Charles, C. Medaisko and J.P. Noblet-L'Oreal, Aulnay-sous-Bois) France
- Collagen in Cosmetic Formulations: A Contribution for Research in Aging Skin (I. Garcin-Gattefossé, Saint-Priest) France
- Cutaneous Elastin Degradation in Inflammation and Ageing. Principles of protection by topical application (W.E. Parish-Unilever Research Center, Sharnbrook) Great Britain
- Moisturizing Formulations and Aging Skin (S. Nacht-Vicks Research Center, New York) USA
- Treatment Cosmetics and Ageing (L.C. Calvo-Germain Monteil Research Center, New York) USA
- Application of Image Analysis to Study the Microtopography of aging Skin Surface (Y. Nakayama-Biol. Science Div. of Pharmacology and Physiology-Shisheido - Tokyo) Japan
- Stereology of the Skin Surface: A Comparison Between Ageing and UV-Induced Injury (P. Courcuff-L'Oreal Research Center-Aulnay-Sous-Bois) France
- Human Skin Microtopography alterations with Age (Makky S., Masouy P., Elkiat M., Mignot J. and Agache P. - Lab. Biol. Cutanée Univ. of Besancon) France
- Suggestion for Photostable Sunscreens (W. Westerhof, A. Kammeyer and R. Ris (Acad. Med. Center Univ. of Amsterdam) The Netherlands



- The Dependence of Low-Pressure Indentation, Slackness, and Surface pH on Age in Forehead Skin of Women (S. Dikstein et al — School of Pharmacy — Jerusalem) Israel
- A National Enquiry on the Dermatologist from a Nationwide inquiry concerning: Cosmetics and Aging (C. Pelfini and M. Vignini Dermatol. Clin. Univ. of Pavia) Italy
- Investigation of Skin Hydration via Changes in Electric Conductivity (S. Husz, C. Boda, N. Simon - Univ. Medical School of Szeged) Hungary.
- Biochemical Assessment of the Anti-Aging Effects of Cosmetic Products (P.T. Pugliese - Xienta Inst. for Skin Research - Bernville) Usa
- Premature Ageing in Xeroderma Pigmentosum. A Clinical Histo-Pathological and Therapeutic Approaches (M.H. El-Hefnawi - Dep. of Dermatol Ain. Shams, Univ. of Cairo) Egypt
- The Phlebostasis of Lower Limbs: Cosmetic, Preventive and Therapeutical Aspects (A. Ciammaichella - Roma) Italy
- Quantitative Evaluation of the Elasticity Coefficient in Aging Skin (M.A.G Longhi, A. Gezzi, M.N.G. Longhi and S.B. Curri - Study Group for Funct. Derm. - Milan - Bologna) Italy
- A New Sensitive Assay for Detecting Thymine - containing Pyrimidine Dimers Using HPLC (H. Niggli-Cosmital-Marly) Switzerland
- Homografts, Autografts, Liquid and solid (J. Nataf - Nice) France
- Elastin in Cosmetic Formulations: Hypothesis About Evaluation of Activity (P. Forlot - Goupil Research Center - Cachan) France
- Bulgarian Creams with Regenerating Action on Ageing Skin (P. Mikhailov - Inst. Dermatol. Acad. of Medicine - Sofia) Bulgaria

### **Under the Auspices of:**

- Ministero della Sanità
- Regione Lazio
- Società Italiana di Chimica e Scienze Cosmetologiche
- Società farmaceutici industria
- Società Italiana di dermatologia e venerologia
- Società Italiana dermatologi ospedalieri

### **Deadlines:**

Abstracts: Nov. 30, 1984  
 Advance registration: Nov. 30, 1984  
 Hotel reservation: Jan. 31, 1985

### **Mailing addresses**

#### **Scientific Secretariat:**

P. Morganti, Ph. D. - Journal of Applied Cosmetology,  
 L. Celleno, M.D. - Fondazione Pro Ricerca Dermatologica,  
 Via F. Bernardini, 22  
 00165 ROME (Italy) - Tel. (06) 63.78.788

#### **Organizing Secretariat:**

Wagons-Lits Turismo,  
 Via Abruzzi, 3k  
 00187 ROME (Italy) - Tel. (06) 47.57.651 - telex 611504

**Fondazione Pro Ricerca Dermatologica, Roma**

## **International Symposium of Pediatric Dermatology**

Mazara del Vallo (Trapani) - 18-21 Settembre, 1985

### **Under the Auspices of:**

SIDEV, ADOI, SIP, ESDP

### **President:**

F. Serri  
Direttore Clinica Dermatologica  
Università Cattolica del Sacro Cuore  
Roma

### **Scientific Secretariat:**

G. Fabrizi  
Istituto di Clinica Dermatologica  
Università Cattolica del Sacro Cuore  
00168 ROMA  
Tel. 06-33054227, 33054211

### **Organizing Secretariat:**

M. El Hachem, S. Centofanti, R. Pellicano, S. Spanu, M. Kent  
Fondazione Pro Ricerca Dermatologica  
Largo Gemelli, 8  
Tel. 06-3385451





**Centre européen de dermocosmétologie**

**XVèmes Journées Internationales de Dermocosmétologie**

LYON - 5. 6. 7 JUIN 1985

Professeur Jean COTTE

**Évaluation des effets cosmétiques  
Méthodes d'aujourd'hui et de demain**

1ère Session - 5 JUIN 1985 - Modèles animaux - Responsable: G. AUBIN  
2ème Session - 6 JUIN 1985 - Méthodes alternatives - Cultures cellulaires -  
Responsable: M. ADOLPHE  
7 JUIN 1985 - Communication libres - Posters.

avec la participation du Professeur FOURNIER, du Professeur PRUNIERAS, du Professeur WEPIERRE

**pour tous renseignements et inscriptions s'adresser à:**

Mademoiselle F. ARMAND - Centre Européen de Dermocosmétologie -  
51, rue Clément Marot - 69007 LYON  
Tél. (7) 869.57.96  
Madame C. LABASSE  
Tél. (7) 874.95.29

Un pré-programme sera diffusé en JANVIER 1985



## Index to Volume 1 1983

### Contents

#### General Articles

Introduction to general cosmetic toxicology

A. Macri, G. Salvatore and A. Stammati Paganuzzi  
9

The significance of mutagenic tests in toxicological investigations on cosmetics

N. Loprieno  
25

Adverse reactions to cosmetics in dermatology

S.D. Randazzo, L.M. Muscardin  
43

Objective evaluation of cosmetics risks for consumers

A.J. Jouhar  
58

EEC Cosmetics legislation

J. Collin  
68

### Subject Index

**Chemical Hazards,**  
of Cosmetics, 9

**Cosmetics,**

General toxicology of, 9

The significance of mutagenic tests in toxicological investigations on, 25

Adverse reactions to, 43

In dermatology, 43

Risks evaluation of, acceptable risks, risk analysis, 58

Dermatitis caused by, 43

EEC legislation on, 68

**2,4-Diaminoanisole,** mutagenicity tests on, 25

**2,5-Diaminotoluene,** mutagenicity tests on, 25

**Mutagenicity,** tests of; validated short-terms tests, 25

**Skin Toxicity,**  
and cosmetics, 9

**Toxicity,**  
guidelines from the European Council for testing of cosmetics, 9

### Author Index

**Collins J,** EEC Cosmetics legislation, 68

**Jouhar AJ,** Objective evaluation of cosmetics risks for consumers, 58

**Loprieno N,** The significance of mutagenic tests in toxicological investigations on cosmetics, 25

**Macri A,** Introduction to general cosmetic toxicology, 9

**Muscardin LM,** See Randazzo SD, 43

**Randazzo SD,** Adverse reactions to cosmetics in dermatology, 43

**Salvatore G,** See Macri A, 9

**Stammati Paganuzzi A,** See Macri, 9



## Index to Volume 2 1984

**Contents** Number 1, 1-54  
Number 2, 1-50  
Number 3, 1-58  
Number 4, 1-60

### Contents

#### Book Reviews:

*Dermatologia nella pratica clinica*  
S.D. Randazzo  
No. 4, 54

#### General articles:

Natural and artificial skin tanning. Risks and advantages.

W.P. Raab  
No. 3, 35

Nutrition and hair.

P. Morganti and S.D. Randazzo  
No 1, 41

Trace elements in human hair: An update.

V. Valkovic  
No 1, 28

#### Guest Editorials:

Electrolysis and the problem of hair «regrowth».

W. Montagna  
No 2, 6

Hormones and hair: An update.

F.J.G. Ebling  
No 3, 7

The psychological benefits of cosmetics in health care: Dermatologic perspectives.

J.A. Graham and A.M. Kligman  
No 4, 7

#### Original laboratory studies.

Absorption and fate of orotic acid after topical application in different vehicles.  
M.C. Martini, M.F. Bobin, H. Flandin and J. Cotte  
No 4, 19

Evaluation of mutagenic activity of the

hair-dye coupler 2-Methyl-5-N- $\beta$ -Hydroxyethyl aminophenol in different eukaryotic assay.

F. Darroudi, F.H. Sobels, A.T. Natarajan  
No 4, 27

Hair growth benefits from dietary cystine-gelatin supplementation.

M.B. James  
No 1, 15

Mutagenic evaluation of the oxidation hair-dye component 2-Methyl-5-N- $\beta$ -Hydroxyethyl aminophenol in the micronucleus test.

K.G. Dossou, A. Bugat, M. Stork, D. Reymond, G. Kalopissis  
No 3, 20

Mutagenicity test of the hair-dye coupler 2-methyl-5-N- $\beta$ -Hydroxyethyl aminophenol in salmonella typhimurium/microsome plate assay and saccharomyces cerevisiae strain D 4.

K.G. Shahin, C. Choppy, N. Lequesne, M.G. Mayet  
No 3, 27

Local therapy in Androgenic alopecia.

W.G. Seller, U. Feldmann, E. Bohnert, E.G. Jung  
No 4, 38

Protection by  $\beta$ -carotene against ultraviolet-induced changes in human dermal collagen.

W.P. Raab  
No 1, 6

The deodorizing activity of some fragrance oils.

P. Morganti, C. Introini and S.D. Randazzo  
No 2, 18

#### Preliminary communications.

Setting priorities for testing essential oils.

D. Richard, A. Ford  
No 2, 28

#### Special report.

A report on the first international symposium on cosmetics treatments.

A.J. Jouhar  
No 2, 35

## Subject Index

- Absorption**,  
of orotic acid after topical application, **No 4, 19**
- Alopecia**, increases of hair growth density by l-cystine and gelatin diet supplementation, **No 1, 15**  
and cystine-gelatin, **No 1, 41**  
and hormones, **No 3, 7**  
and caffeine, **No 4, 38**
- Androgens**, and hair, **No 3, 7; No 4, 38**
- Androgenic alopecia**, **No 4, 48**
- Anti-Androgens**, and hair regrowth, **No 3, 7; No 4, 38**
- Art**,  
To put oneself in alternative, **No 1, 50**  
The instant is he work of art, **No 2, 44**  
The seduction of art, **No 3, 48**  
To live or to survive, **No 4, 48**
- Bacteriostatic Activity**, of fragrance oils, **No 2, 18**
- Caffeine**, local hair therapy using, **No 4, 38**  
 $\beta$ -Carotene, orally active photoprotective, in photodermatoses; in human dermal collagen, **No 1, 6**
- Canthaxanthin**, protective in photodermatoses; in human dermal collagen, **No 1, 6**
- Carotenoids**, orally ingested, **No 3, 35**
- Cystine**, hair growth benefits from dietary supplementation; increases hair shaft diameter and hair growth density, **No 1, 15; No 1, 41**; effects on the amino acid compositions of hair, effect on hair after a three months treatment, **No 1, 41**
- Chlorhydrol**, activity on microbial population, **No 2, 18**
- Cosmetic treatments**, an international symposium on, **No 2, 35** the psychological benefits of, **No 4, 7**; by orotic acid, **No 4, 19**; by caffeine, **4, 38**
- Deodorants**, the deodorizing activity of fragrance oils, **No 2, 18**
- Effluvium telogen**, cystine-gelatin in, **No 1, 15** and **41**
- Essential oils**, deodorizing activity of, **No 2, 18**
- Electrolysis**, and hair regrowth, **No 2, 6**
- Farnesol**, deodorizing activity of, **No 2, 18**
- Gelatin**, hair growth benefits from dietary supplementation; increases hair shaft diameter and hair growth density, **No 1, 15, 41**
- Hair**, growth benefits from dietary supplementation; shaft diameter increase; benefits of cystine-gelatin supplementation, **No 1, 15; No 1, 41**; trace elements in, **No 1, 28**; cystine-gelatin in, **No 1, 41**;  
destruction of, by electrolysis, **No 2, 6**;  
growth and hormones, **No 3, 7**;  
follicles and  $5\alpha$ -reduction, **No 3, 7**;  
local therapy; maintenance and density of suprabulbar diameter of anagen h.; **No 4, 38**
- Hirsutism**, and hormones, **No 3, 7**
- Inhibitors**, of  $5\alpha$ -reductase, **No 4, 38**
- Methodology**, evaluation of hydroxyproline content in human dermal collagen, **No 1, 6**  
clinic evaluation of hair growth; hair benefits  
measure, hair density, **No 1, 15**  
microbiological analysis, **No 2, 18**  
evaluation of perfume compounds by chamber-test methodology, **No 2, 18**  
for developing the «protection index», **No 2, 28**  
evaluation of topical hair therapeutics, **No 4, 38**
- Mutagenicity**, test of hair-dye coupler 2-Methyl-5-N- $\beta$ -Hydroxyethyl aminophenol in salmonella typhimurium/microsome plate, **No 3, 27**;  
Mutagenic evaluation of 2-Methyl-5-N- $\beta$ -Hydroxyethyl aminophenol in the micronucleus test and in different eukaryotic assay, **No 3, 20** and **No 4, 19**
- Orotic acid**, absorption of, after topical application in different vehicles, **No 4, 19**
- Protection index**, of essential oils, **No 2, 28**
- Risks**, of skin tanning, **No 3, 35**
- Sunlight**, increase tolerance in, after oral  $\beta$ -carotene ingestion, **No 3, 35**
- Safety testing**, of essential oils, **No 2, 28**
- Skin**, natural and artificial skin tanning; pigmentation by orally ingested carotenoids, **No 3, 35**
- Therapy**, local hair, **No 4, 38**
- Testosterone**, and  $5\alpha$ -reduction, **No 3, 7; No 4, 38**
- Toxicity**, of essential oils, **No 2, 28**
- Trace elements**, in human hair; types of measurements of, **No 1, 28**
- Trimethylxanthin**, in androgenic alopecia, **No 4, 38**



## Author Index

- Bardoneschi G.**, See Shahin M.M., No 3, 27  
**Bobin M.F.**, See Martini M.C., No 4, 19  
**Bohnert E.**, see Seiler W.G., No 4, 38  
**Bugaut A.**, See Dossou K.G., No 3, 27  
**Chopy C.**, See Shahin M.M., No 3, 27  
**Cotte J.**, See Martini M.C., No 4, 19  
**Darroudi F.**, Evaluation of mutagenic activity of the hair-dye coupler 2-Methyl-5-N- $\beta$ -Hydroxyethyl aminophenol in different eukaryotic assay, No 4, 27  
**Dossou K.G.**, Mutagenic evaluation of the oxidation hair-dye component 2-Methyl-5-N- $\beta$ -Hydroxyethyl aminophenol in the micronucleus test, No 3, 20  
**Ebling F.J.G.**, Hormones and hair: An update, No 3, 7  
**Flandin H.**, See Martini M.C., No 4, 27  
**Feldmann U.**, see Seiler W.G., No 4, 38  
**Ford D.R.**, Setting priorities for testing essential oils, No 2, 28  
**Graham J.A.**, The psychological benefits of cosmetics in health care: Dermatological perspectives, No 4, 7  
**Introini C.**, See Morganti P., No 2, 18  
**James M.B.**, Hair growth benefits from dietary cystine-gelatin supplementation, No 1, 15  
**Jouhar A.J.**, A report on the first international symposium on cosmetics treatments, No 2, 35  
**Kalopissis G.**, See Dossou K.G., No 3, 20  
**Kligman A.M.**, See Graham J.A., No 4, 7  
**Lequesne N.**, See Shahin M.M., No 3, 27  
**Lisi B.**, To put oneself in alternative, No 1, 50  
 The instant is the work of art, No 2, 44  
 The seduction of art, No 3, 48  
**Mayet M.J.**, See Shahin M.M., No 3, 27  
**Martini M.C.**, Absorption and fate of orotic acid after topical application in different vehicles, No 4, 19  
**Montagna W.**, Electrolysis and the problem of hair «regrowth», No 2, 6  
**Morganti, P.**, Nutrition and hair, No 1, 41  
 The deodorizing activity of some fragrance oils, No 2, 18  
**Natarajan A.T.**, See Darroudi F., No 4, 27  
**Raab W.P.**, Protection by  $\beta$ -carotene against ultraviolet-induced changes in human dermal collagen, No 1, 6  
 Natural and artificial skin tanning. Risks and advantages, No 3, 35  
**Randazzo S.D.**, See Morganti P., No 1, 41 and No 2, 18; No 4, 54  
**Reymond D.**, See Dossou K.G., No 3, 20  
**Seiler W.G.**, No 4, 38  
**Shahin M.M.**, Mutagenicity test of the hair-dye coupler 2-Methyl-5-N- $\beta$ -Hydroxyethyl aminophenol in salmonella typhimurium/microsome plate assay and saccharomyces cerevisiae strain D4, No 3, 27  
**Sobels F.H.**, See Darroudi F., No 4, 27  
**Stork M.**, See Dossou K.G., No 3, 20  
**Valkovic V.**, Trace elements in human hair: An update, No 1, 28

*Per la pubblicità di questa rivista:*

**Concessionaria Italiana Pubblicità G & V s.r.l.** - Via Savona, 94 - 20144 Milano - Tel. (02) 4225907-4231910

Journal of Applied Cosmetology published quarterly by INTERNATIONAL EDIEMME, Via F. Bernardini 22, 00165 Roma Italy. Direttore Responsabile P. Morganti. Direzione, Redazione ed Amministrazione: Via F. Bernardini 22, 00165 Roma Italy. Fotocomposizione e stampa VARI MAYOR. Progetto grafico e copertina B. Lisi. Impaginazione e grafica: E. Francioso. Spedizione in abbonamento postale gruppo IV/70. Autorizzazione del tribunale di Roma n. 3173/83 del 8.7.1983.



# proteggendo favorisce l'abbronzatura

MAVISOLE 3  
MAVISOLE 6  
MAVISOLE 9  
MAVISOLE 15  
MAVISOLE DOPO

Per pelli normali ad effetto rapido  
Idratante per pelli delicate  
Filtro totale nelle iperpigmentazioni anormale  
Per le labbra e le zone più sensibili  
Arrossamenti cutanei post-sole

# MAVISOLE®



Per documentazione tecnica e campioni medici:

Mavi s.r.l. - Via Filippo Bernardini, 22 - 00165 Roma (Italy) - Tel. (06) 63.84.348



Per Campioni Medici e Documentazione Scientifica:  
Lieder Mavi Distributrice Via Filippo Bernardini, 22 00165 Roma Tel. (06) 63.84.348

# dermactive®

SINGLE-DOSE COSMETIC MIXTURE PRESERVATIVE-FREE



PREVENTION IS PROTECTION