

Низкоинтенсивное лазерное излучение и лазерофорез гиалуроновой кислоты как методы коррекции возрастных изменений кожи: дальнейшее расширение доказательной базы

Часть 2. Воздействие на возрастные пятна и дермальный матрикс

Сергей Москвин, Евгений Антипов, Елена Зарубина, Елена Рязанова

Об авторах:

Москвин Сергей Владимирович, д.б.н., к.т.н., ведущий научный сотрудник ФГУ «Государственный научный центр лазерной медицины ФМБА России», проф. кафедры восстановительной медицины ГОУ «ИПК ФМБА России». E-mail: 7652612@mail.ru

Антипов Евгений Валерьевич, ассистент каф. естественно-научных дисциплин НОУ ВПО СМИ «Реавиз». E-mail: eugantipov@gmail.com

Зарубина Елена Григорьевна, зав. каф. медико-биологических дисциплин, д.м.н., профессор. E-mail: e-zarubina@yandex.ru

Рязанова Елена Анатольевна, к.м.н., Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова. E-mail: elena-ruaz@mail.ru

В ходе всестороннего исследования действия на кожу НИЛИ — как отдельного метода, так и в сочетании с гиалуроновой кислотой (лазерофорез гиалуроновой кислоты) — мы оценивали различные параметры, по которым можно судить о происходящих в коже изменениях. О влиянии обоих методов на микроциркуляцию мы писали в первой части данной статьи, опубликованной в журнале «Косметика и медицина» №2/2011.

В продолжение поднятой темы в этом номере журнала публикуются данные, касающиеся эффективности НИЛИ и лазерофореза гиалуроновой кислоты (ГК) для борьбы с возрастными пятнами и дряблостью кожи.

Часть 1. «Влияние на микроциркуляцию» (выводы):

1. Возрастное ухудшение микроциркуляции и связанное с этим «кислородное голодание» можно скорректировать методами НИЛИ и лазерофорезом ГК.

2. Влияние обоих методов на эффективность кислородного обмена в кожной ткани различно: по сравнению с НИЛИ лазерофорез ГК показывает результаты выше в среднем на 10–20%.
3. Эффективность лазерофореза ГК зависит от используемого геля. Из трех тестируемых гелей лучший результат в плане влияния на микроциркуляцию показал гель «ЛАЗМИК®», специально разработанный нами для процедуры лазерофореза. Два других препарата отличались от «ЛАЗМИК®» только молекулярной массой ГК (таблица 1): в геле «ЛАЗМИК®» присутствуют молекулы ГК размером 250–1000 кДа, а в других гелях — только 250 кДа. Во всем остальном гели выглядят полными аналогами. Мы предполагаем, что присутствие в препарате высокомолекулярной фракции ГК может сказаться на конечном результате, но это предположение требует дополнительного изучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами было обследовано 60 женщин в возрасте от 20 до 55 лет. Исследования проводились на основе добровольного информированного согласия больных в соответствии со всеми этическими требованиями, которые предъявляются к исследованиям с участием человека.

- Контрольная группа — 20 практически здоровых молодых женщин в возрасте от 20 до 30 лет.
- 1-я группа — 10 женщин в возрасте от 30 до 55 лет без выраженных патологий, которым проводилось воздействие НИЛИ.
- 2-я группа — 10 женщин в возрасте от 30 до 55 лет без выраженных патологий, которым проводился лазерофорез ГК гелем №1 «ЛАЗМИК®» (Россия).
- 3-я группа — 10 женщин в возрасте от 30 до 55 лет без выраженных патологий, которым проводили лазерофорез ГК, входящей в состав геля №2.
- 4-я группа — 10 женщин в возрасте от 30 до 55 лет без выраженных патологий, которым проводили лазерофорез ГК, входящей в состав геля №3.

Гели, задействованные в эксперименте, были получены от разных производителей, но имели сходные физико-химические показатели. Концентрация ГК во всех препаратах составляла 1,5%; молекулярная масса ГК — 250–1000 кДа («ЛАЗМИК®») и 250 кДа (гели № 2 и 3).

Наружное безинъекционное введение ГК в кожу осуществлялось воздействием НИЛИ с помощью аппарата лазерной и лазерно-вакуумной терапии «ЛАЗМИК» (излучающая головка КЛО-780-90 со специальной насадкой ЛАЗМИК, длина волны 780–785 нм, непрерывный режим, средняя мощность 40–50 мВт, время обработки одной зоны — 0,5–1 мин, общее время воздействия — 10 мин).

Измерения проводились у пациентов в одно и то же время в первой половине дня при комнатной температуре 23°С в положении сидя после 30-минутного отдыха.

Для исследования флуоресценции кожи у пациентов проводили измерения на многофункциональном диагностическом комплексе «ЛАКК-М».

Измерение спектра флуоресценции

Измерения осуществляли методом **лазерной флуоресцентной спектроскопии**, который заключается в регистрации спектра вторичного излучения ткани при ее зондировании лазерным излучением на длине волны, соответствующей длине волны максимального поглощения излучения определенным флуорофором. Для возбуждения флуоресценции использовали три длины волн: 365, 532 и 630 нм, что позволяло оценивать интенсивность излучения флуоресценции различных ферментов окислительного метаболизма (пиридиннуклеотиды, флавопротеиды), пигментов (липофусцин) и структурных белков (коллаген, эластин).

Для оценки флуоресценции применялся коэффициент флуоресцентной контрастности биоткани, определяемый по формуле:

$$K_f = 1 + (I_f - I_l) / (I_f + I_l),$$

где I_f — максимум (пик) интенсивности в линии флуоресценции фермента, I_l — максимум в интенсивности пика в лазерной линии.

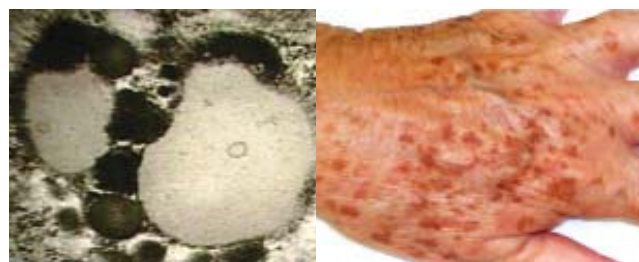
Таблица 1. Гели с ГК, использованные в исследовании

Гель	№1 «ЛАЗМИК®»	№2 Hialurox	№3 BYONIK-Hyaluronic Gel XOO
Страна и сайт производителя	Россия www.matrix-kosmetolog.ru	Испания www.corpora.es	Германия www.beautylumis.com
Содержание ГК, %	1,5	1,5	1,5
Размеры молекулы, кДа	250–1000	250	250

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения в показателях интенсивности флуоресценции флуорофоров отражают изменения относительных концентраций данных веществ в кожной ткани.

■ Липофусцин



Скопления липофусцина: гранулы в клетке (электронная микрофотография) и пятна на коже

Липофусцин (син.: *пигмент бурый, пигмент желтый, пигмент изнашивания, пигмент липоидный, пигмент старения, хромолипоид*) — гликолипопротеид, рассеянный в цитоплазме клеток всех органов и тканей в виде мелких желто-бурых глыбок, обычно сконцентрированных вокруг ядра. Белковая часть липофусцина представлена окисленными и перекрестношшитыми протеиновыми цепями, трудно поддающимися разрушению ферментами. Формированию и аккумуляции липофусцина способствует окислительный стресс, причем значительная часть липофусцина откладывается в самих лизосомах [1].

Окисление белков *in vivo* — это естественный процесс в аэробных клетках. То обстоятельство, что с возрастом происходит накопление окисленных белков, говорит о снижении способности клетки их разрушать. В норме окисленные белки разрушаются *протеазами*, находящимися внутри лизосом, и *протеасомным комплексом*, расположенным непосредственно в цитоплазме и клеточном ядре. Обнаружено, что некоторые продукты перекисного окисления липидов (в частности, 4-гидрокси-2-ноненал) могут, с одной стороны, провоцировать формирование перекрестных сшивок белков, а с другой — повреждать протеасомный комплекс, делая его неспособным разрушать модифицированные белки [2]. Окислительное поврежде-

ние мембранных транспортных белков может привести к тому, что внутриклеточные концентрации натрия и кальция изменятся, а это, в свою очередь, скажется на активности других ферментных систем клетки, в том числе — протеолитических.

В коже активность цитоплазматических протеасомных систем падает при старении фибробластов [3]. УФА- и УФВ-излучение меняет активность протеасомного комплекса в кератиноцитах. Интересно, что дальние последствия УФ-облучения кожи (так называемые признаки фотостарения) можно скорректировать с помощью ретинола и транс-ретиноевой кислоты. Само же по себе УФ-излучение блокирует передачу ретиноевого сигнала через убиквитин/протеасома-опосредованную деградацию ядерных рецепторов для ретинола. Получается, что лучшего эффекта от омолаживающих ретиноловых препаратов можно добиться, если их начинать использовать спустя некоторое время после УФ-облучения — это необходимо для того, чтобы протеасомный комплекс успел прийти «в норму» и к клеткам вернулась чувствительность к ретиноловым сигналам. Однако эта гипотеза требует более тщательного исследования [4–7].

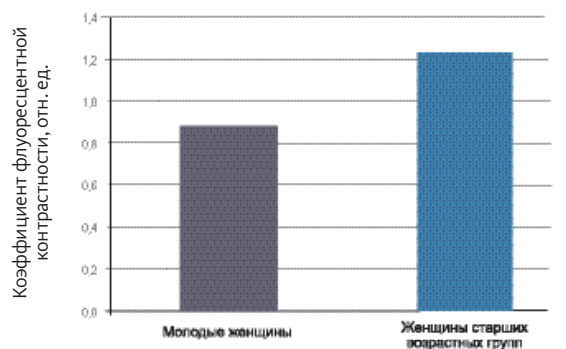
Накопление липофусцина в клетках происходит при старении организма, а также при многих патологиях, например, при заболеваниях, связанных с атрофией органов. Его концентрация обычно выше в неделящихся клетках (например, нейронах, клетках скелетной и сердечной мышечной ткани).

Отложению липофусцина в клетках кожи способствует УФ-излучение, в связи с этим возрастные пятна образуются преимущественно на открытых участках кожи — лицо, руки, область декольте. Но если смена клеточного состава эпидермиса происходит довольно быстро в ходе естественного обновления внешнего слоя кожи, то фибробласты дермального слоя остаются на месте длительное время. Поэтому появление на коже возрастных пятен связывают преимущественно с накоплением липофусцина в цитоплазме фибробластов. Вот почему с этими пятнами так сложно бороться — осветляющие препараты, использующиеся в косметологии для коррекции пигментных пятен и воздействующие на меланин, практически бессильны в борьбе с возрастными пятнами. Так что разработка эффективного метода против возрастных пятен остается весьма актуальной задачей.

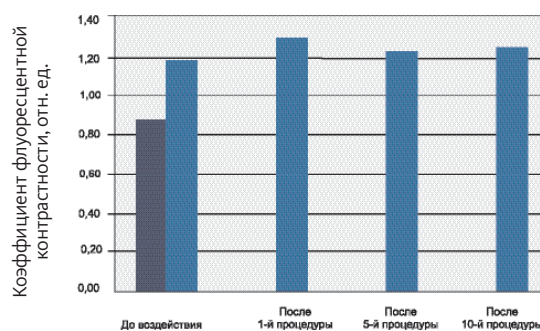
В рамках нашего исследования мы постарались ответить на вопрос, целесообразно ли использовать НИЛИ и лазерофорез с ГК для коррекции возрастных пятен, и получили следующие результаты.

Результаты

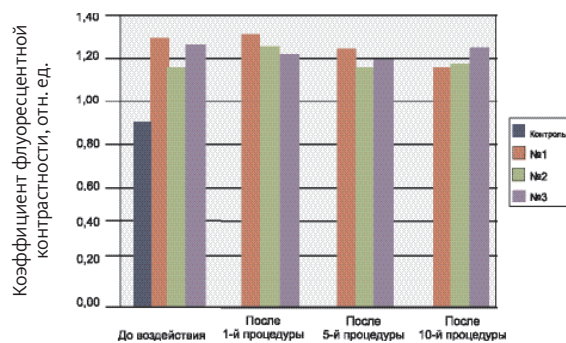
1. Коэффициент флуоресцентной контрастности у женщин старших возрастных групп выше в среднем на 28% по сравнению с молодыми женщинами (рис. 1а).
2. Нет достоверных различий в значении коэффициента флуоресцентной контрастности липофусцина после воздействия НИЛИ (рис. 1б).
3. Нет достоверных различий в значении коэффициента флуоресцентной контрастности липофусцина после воздействия лазерофореза различных гелей с гиалуроновой кислотой (рис. 1в).



а) Возрастная зависимость



б) НИЛИ



в) Лазерофорез ГК

Рис. 1. Коэффициент флуоресцентной контрастности липофусцина

Обсуждение

Пики флуоресцентного излучения липофусцина обнаружены на длинах волн 560, 570 и 608 нм (желтая область спектра) (рис. 2) [8].

В спектрах флуоресценции кожи женщин старших возрастных групп, кроме полос излучения восстановленных пиридиннуклеотидов (490 нм; голубая область спектра) и окисленных флавопротеидов (520 нм; зеленая область спектра), появляется более выраженная, чем у молодых женщин, дополнительная желтая полоса излучения с максимумом 560–565 нм. Возможно, эта полоса, соответствующая флуоресценции липофусцина, обязана своим происхождением каротиноидам, входящим в состав липофусциновых гранул. Стоит отметить, что спектры флуоресценции отдельных гранул липофусцина состоят

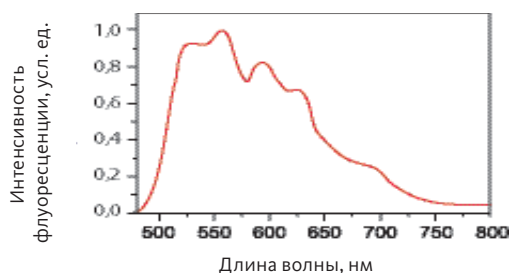


Рис. 2. Эмиссионный спектр флуоресценции липофусцина

из полос флуоресценции отдельных соединений. Вариации относительных интенсивностей этих полос определяют форму результирующего спектра флуоресценции. Не исключено, что среди флуорофоров, входящих в состав липофусциновых гранул, помимо каротиноидов есть и окисленные ненасыщенные жирные кислоты.

Выводы

1. Метод флуоресцентной спектроскопии удобен для регистрации липофусциновых отложений в тканях и может быть использован для оценки эффективности различных процедур, направленных на коррекцию возрастных пятен.
2. Наши исследования подтвердили полученные ранее данные о том, что накопление липофусцина коррелирует с возрастом.
3. Ни НИЛИ, ни лазерофорез ГК не изменили уровень «пигмента старения» в коже ни в сторону уменьшения, ни в сторону увеличения. Это говорит об отсутствии специфического действия данных косметологических методов на процессы образования и разрушения липофусцина в клетках кожной ткани.

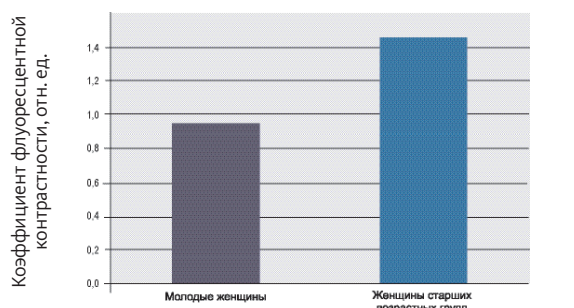
■ Коллаген и эластин

Коллаген и эластин формируют в дермальном слое поддерживающий каркас, отвечающий за биомеханические свойства кожи — эластичность, упругость, прочность. Количественный и качественный состав каркаса меняется при некоторых заболеваниях, а также с возрастом [9]. Поскольку коллаген и эластин являются флуоро-

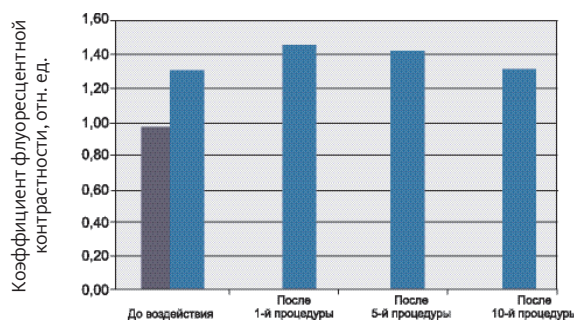
форами, то их изменения можно отслеживать с помощью флуоресцентной спектроскопии [10]. Пик флуоресцентного излучения коллагена и эластина обнаружен на длине волны в районе 420 нм (ультрафиолетовая область спектра).

Результаты

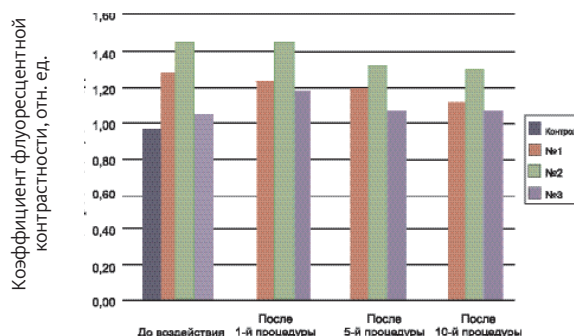
1. Коэффициент флуоресцентной контрастности коллагена и эластина выше у женщин старших возрастных групп по сравнению с молодыми женщинами на 33% (рис. 3а).
2. Нет достоверных различий в значении коэффициента флуоресцентной контрастности коллагена и эластина после воздействия НИЛИ (рис. 3б).
3. Коэффициента флуоресцентной контрастности коллагена и эластина после воздействия лазерофореза ГК достоверно снижается (в среднем на 11%) (рис. 3в).



а) Возрастная зависимость



б) НИЛИ



в) Лазерофорез ГК

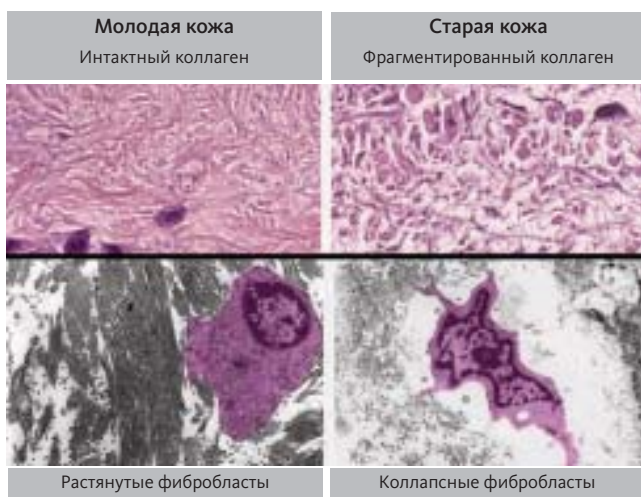


Рис. 3. Коэффициент флуоресцентной контрастности коллагена и эластина

Обсуждение

Различия в показателях коэффициента флуоресцентной контрастности коллагена и эластина у женщин разных возрастных групп связаны с количественными и качественными перестройками коллагеново-эластинового каркаса дермального слоя. С возрастом происходит накопление сшитых молекул коллагена, которые в отличие от нормальных коллагеновых фибрилл медленно разрушаются металлопротеиназами. Некоторые коллагеновые и эластиновые белки гликируются, т.е. вступают в реакцию с сахарами и превращаются в так называемые конечные продукты гликирования (AGE-products), которые также накапливаются и постепенно замещают нормальные волокна. Появление аномальных эластиновых волокон приводит к возрастному эластозу. Все это сказывается на биомеханических свойствах кожи — она становится дряблой, менее эластичной, покрывается сеткой морщин [10–12].

Выводы

1. Флуоресцентная спектроскопия является удобным методом диагностики возрастных изменений коллагеново-эластинового каркаса, а также методом, позволяющим оценить эффективность процедур, направленных на его структурное «омоложение».
2. Согласно полученным нами данным, оказалось, что само по себе НИЛИ (по крайней мере, в том варианте, который здесь рассматривается) не влияет на метаболизм коллагена и эластина.

3. Зато нами был обнаружен статистически достоверный эффект лазерофореза ГК: после проведения курса из 10 процедур коллагеново-эластиновый каркас кожи явно «омолодился», что нашло отражение на спектре флуоресценции.

Резюме

Наши исследования показали, что лазерофорез ГК может оказывать омолаживающее действие на возрастную кожу, что отражается в изменении как функциональных (микроциркуляция), так и структурных (коллагеново-эластиновый матрикс) характеристик кожи.

По мере все более широкого использования лазерофореза ГК в эстетической медицине и накопления клинического опыта обнаруживаются интересные эффекты, которые требуют изучения. Мы не останавливаем своих исследований, и по мере получения новых результатов будем делиться ими с практикующими специалистами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jung T., Höhn A., Catalgol B., Grune T. Age-related differences in oxidative protein-damage in young and senescent fibroblasts. Arch Biochem Biophys. 2009; 483(1): 127–135.
2. Shringarpure R., Davies K.J. Protein turnover by the proteasome in ageing and disease. Free Rad Biol Med, 2002; 11: 1084–1089.
3. Sitte N., Merker K., Von Zglinicki T., Grune T. Protein oxidation and degradation during proliferative senescence of Human MRC-5 fibroblasts. Free Rad Biol Med; 28 (5): 701–708.
4. Bulteau A.L., Moreau M., Nizard C., Friguet B. Impairment of proteasome function upon UVA- and UVB- irradiation of human keratinocytes. Free Rad Biol Med, 2002; 11: 1157–1170.
5. Bulteau A.L., Moreau M., Nizard C., Friguet B. UVA and UVB irradiation is affecting proteasome function both in vitro and in human keratinocyte cultures. 4th Workshop on proteasome, Clermont-Ferrand, 2-4/04/2001.
6. Boudjelal M., Wang Z.Q., Voorhees J.J., Fisher G.J. Ubiquitin/proteasome pathway regulates levels of retinoic acid receptor gamma and retinoid X receptor alpha in human keratinocytes. Cancer Research, 2000; 60: 2247–2252.
7. Boudjelal M., Wang Z.Q., Voorhees J.J., Fisher G.J. Ultraviolet irradiation blocks retinoid signaling in human skin through proteasome-mediated degradation of nuclear retinoid receptors. Cancer Research, 1998; 60: 2247–2252.
8. Schoenenbruecher H., Adhikary R., Mukherjee P. et al. Fluorescence-based method, exploiting lipofuscin, for real-time detection of central nervous system tissues on bovine carcasses. J Agric Food Chem 2008; 56(15): 6220–6226.
9. Sachs D.L., Voorhees J.J. Age-reversing drugs and devices in dermatology. Clin Pharm Ther 2011; 89(1): 34–43.
10. Kollias N., Gillies R., Moran M., Kochevar I.E., Anderson R.R. Endogenous skin fluorescence includes bands that may serve as quantitative markers of aging and photoaging. J Invest Dermatol 1998; 111: 776–780.
11. Situm M., Buljan M., Cavka V., Bulat V., Krolo I., Mihic L.L. Skin changes in the elderly people — how strong is the influence of the UV radiation on skin aging? Coll Antropol. 2010; 34 Suppl 2: 9–13.
12. Widgerow A.D., Grekin S.K. Effecting skin renewal: a multifaceted approach. J Cosmet Dermatol. 2011; 10(2): 126–130.

Beauty Expo
THE INTERNATIONAL SPECIALIZED EXHIBITION OF BEAUTY PRODUCTS
МЕЖДУНАРОДНАЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ВЫСТАВКА ИНДУСТРИИ КРАСОТЫ

EXHIBITION ORGANIZER
ОРГАНИЗАТОР ВЫСТАВКИ
TRT

REPUBLIC OF AZERBAIJAN / 1–3 DECEMBER
РЕПУБЛИКА АЗЕРБАЙДЖАН / 1–3 ДЕКАБРЯ

REPUBLIC OF UZBEKISTAN / 20–30 JUNE
РЕПУБЛИКА УЗБЕКИСТАН / 20–30 ИЮНЯ

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN / 20–22 SEPTEMBER
РЕПУБЛИКА КАЗАХСТАН / 20–22 СЕНТЯБРЯ

Beauty EXPO

www.trtexpo.com / www.trtexpo.az / E-mail: BeautyExpo@trtexpo.com / Tel: (+99871) 1204347, 1204349