

УДК 613.495:615.849.19

Москвин С.В.¹, Антипов Е.В.², Зарубина Е.Г.², Рязанова Е.А.², Киселева О.Н.², Брусенцева Л.Ю.²

Эффективность кислородного обмена после лазерофореза различных гелей на основе гиалуроновой кислоты

Moskvin S.V.¹, Antipov E.V.², Zarubina E.G.², Rjazanova E.A.², Kiseleva O.N.², Brusentseva L.Yu.²

Effectiveness of oxygen exchange after laserphoresis with various gels based on hyaluronic acid

¹ ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России»,² НОУ ВПО «Самарский медицинский институт «Реавиз»

В работе исследуется влияние воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения и лазерофорез гелей с гиалуроновой кислотой на метаболические процессы в клетках и коже лица, в частности на микроциркуляцию и эффективность кислородного обмена. Особенностью исследования является комплексное использование нескольких методов: диагностика микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии, оптической тканевой оксиметрии и лазерной флуоресцентной диагностики, что позволяет оценить не только параметры тканей в целом (например, микроциркуляция), но и клеточный метаболизм. На основании полученных данных по показателю эффективности кислородного обмена, связывающего параметры микроциркуляции, сатурацию кислородом смешанной крови и флуоресценцию НАДН и ФАД, подтверждено положительное влияние НИЛИ и лазерофореза на микроциркуляцию крови кожи лица женщин старших возрастных групп. При этом лучшие результаты показал лазерофорез отечественного геля с нативной гиалуроновой кислотой ЛАЗМИК®. *Ключевые слова:* лазерная терапия, лазерофорез, лазерная доплеровская флоуметрия, флуоресцентная диагностика.

In the given work the authors have studied effects of low-level laser irradiation and laserphoresis with gels based on hyaluronic acid at metabolic processes in cells and facial skin, namely, at microcirculation and oxygen exchange. The peculiarity of the presented study lies in the complex application of several methods: diagnostics of microcirculation with laser doppler flowmetry, optic tissue oxymetry, laser fluorescent diagnostics. All these methods allow to assess both tissue parameters in general (for example, microcirculation) and cellular metabolism as well. The data obtained on the effectiveness of oxygen exchange, which bonds microcirculation parameters, oxygen saturation of mixed blood and fluorescence of endogenous fluorophors have confirmed a positive effect of low-level laser irradiation (LLL) and laserphoresis at the skin microcirculation in women of elder age. In the study the best results were obtained for laserphoresis with Russian-made gel containing the native hyaluronic acid LASMIK®. *Key words:* laser therapy, laserphoresis, laser doppler flowmetry, fluorescent diagnostics.

Введение

Возрастные физиологические изменения в коже, являющиеся частью общего биологического процесса старения, могут привести к развитию значительных нарушений внешнего вида, что снижает качество жизни людей [3, 7]. Поэтому особенно актуальным является разработка новых методов применения различных физических факторов, способных улучшать эффективность реабилитационных и профилактических мероприятий для восстановления физиологических возрастных нарушений кожи.

В объективной диагностике возрастных изменений кожи важнейшее значение имеют параметры микроциркуляции, показатели окислительного метаболизма клеток кожи, а также относительное содержание и показатели флуоресценции эндогенных флуорофоров тканей, таких как НАДН, НАДФН, ФАД, коллаген, эластин, липофусцин, изменение содержания которых наблюдается при различных патологических процессах в тканях, а также в результате естественных процессов, происходящих при старении организма [1, 2, 5, 6]. Важно установить связь между физиологическими процессами на разных уровнях организации, для того чтобы более полно выявить механизмы возрастных изменений кожи и прогнозировать эффективность методов их коррекции.

Целью исследования является оценка флуоресцентного показателя потребления кислорода и показателя эффективности кислородного обмена у женщин в возрасте 45–55 лет до и после воздействия низкоинтенсивного

лазерного излучения и лазерофореза гелей на основе гиалуроновой кислоты.

Материал и методы исследования

В контрольную группу были включены 20 практически здоровых женщин в возрасте от 20 до 30 лет. В экспериментальные группы вошли женщины в возрасте от 45 до 55 лет. План исследования был одобрен этическим комитетом НОУ ВПО «Самарский медицинский институт «Реавиз». Все исследования проведены при наличии информированного добровольного письменного согласия испытуемых.

В исследование включали практически здоровых женщин различных возрастных групп. *Критерии включения:*

- отсутствие выраженных патологий кровообращения и заболеваний, нарушающих микроциркуляцию;
- отсутствие вредных привычек;
- отсутствие противопоказаний к воздействию лазерного излучения;
- воздержание от приема лекарственных препаратов, алкогольных и кофеиносодержащих напитков минимум за 30 минут до процедуры.

В первой опытной группе проводили воздействие только НИЛИ, во 2-й – лазерофорез аппаратного геля с гиалуроновой кислотой ЛАЗМИК® (Россия), в 3-й – лазерофорез геля Hialurox (Испания), в 4-й – лазерофорез геля BYONIK-Hyaluronic Gel XOO (Германия) (табл. 1).

Отдельную группу составили женщины, которым наносили гель с гиалуроновой кислотой и не проводили воздействие НИЛИ.

Таблица 1
Гели с гиалуроновой кислотой, используемые в исследовании

Наименование	ЛАЗМИК	Hialurox	BYONIK-Hyaluronic Gel XOO
Содержание ГК, %	1,5	1,5	1,5
Размеры молекулы, нм	250–1000	250	250

Процедуру лазерофореза проводили по следующей методике, включающей два этапа [9]:

1. Очищение кожи лица средством для снятия макияжа.
2. Проведение лазерофореза с гиалуроновой кислотой:
 - наносили ГК в количестве $1 \text{ см}^3/10 \text{ см}^2$ кожи, равномерно распределяя гель по всей поверхности лба и периорбитальных областей;
 - надевали на пациентку защитные очки ЛАЗМИК® для защиты глаз от лазерного излучения при проведении процедуры на лице;
 - сразу же после нанесения геля ставили на данную область излучающую головку (снабженную специальной косметологической насадкой) перпендикулярно поверхности тела;
 - включали аппарат, массирующими движениями перемещали головку по всей сканируемой периорбитальной области и лба несколько раз;
 - время воздействия излучением на одну зону составляло 0,5 мин, так чтобы общее время всей процедуры не превышало 10 минут.

Лазерофорез ГК осуществляли после 30-минутного отдыха 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).

Для достижения наилучшего эффекта применяли оптимальную энергетическую плотность (ЭП). Оптимизация ЭП обеспечивалась вариацией одного из трех взаимозависимых параметров [10]: средняя мощность излучения, время воздействия, площадь воздействия (1 см^2). В нашем исследовании устанавливали среднюю мощность излучения 50 мВт, среднее время воздействия составляло 30 с на одну зону и площадь воздействия на одну зону (на всю освещаемую поверхность – примерно 10 см^2). Таким образом, ЭП составила в среднем $1,5 \text{ Дж/см}^2$. Воздействие НИЛИ и лазерофорез проводили одинаковыми параметрами средней мощности излучения, времени воздействия и площади воздействия, используя одну и ту же излучающую головку.

Для исследования изменения параметров исследования у пациентов проводили измерения с помощью многофункционального диагностического комплекса

«ЛАКК-М». Измерения проводили у пациентов в положении сидя в одно и то же время в первой половине дня при комнатной температуре $23 \text{ }^\circ\text{C}$, спустя 10 минут после процедур воздействия НИЛИ и лазерофореза (для достижения максимального эффекта действия НИЛИ).

Измерения осуществляли при совмещении метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), оптической тканевой оксиметрии (ОТО) и лазерной флуоресцентной спектроскопии (ЛФС). Зонд устанавливали на височную область. При этом транспорт кислорода в микроциркуляторном русле и его потребление тканью оценивали по формуле:

$$\text{ЭКО} = M \times U \times \text{ФПК}, \quad (1)$$

где ЭКО – эффективность кислородного обмена, M – среднее значение перфузии, U – индекс удельного потребления кислорода, ФПК – флуоресцентный показатель потребления кислорода.

Методом ЛДФ определяли показатель микроциркуляции в соответствии со следующим выражением:

$$\text{ПМ} = K \times N_{\text{эp}} \times V_{\text{сp}}, \quad (2)$$

где K – коэффициент пропорциональности, $N_{\text{эp}}$ – число эритроцитов в объеме зондирования ткани, $V_{\text{сp}}$ – средняя скорость движения эритроцитов.

Показатель сатурации кислородом (в %) смешанной крови в микроциркуляторном русле методом ОТО рассчитывали по формуле:

$$\text{SO}_2 = D_{\text{O}_2\text{нб}} / (D_{\text{O}_2\text{нб}} + D_{\text{ннб}}), \quad (3)$$

где $D_{\text{O}_2\text{нб}}$ и $D_{\text{ннб}}$ – доли света, поглощаемые оксигенированной и дезоксигенированной фракцией гемоглобина соответственно.

Комплексный показатель микроциркуляции крови – индекс удельного потребления кислорода в ткани определяли по формуле:

$$U = \text{SpO}_2 / \text{SO}_2, \quad (4)$$

где SpO_2 – сатурация кислородом артериальной крови (определяется пульсоксиметрией).

Индекс определяли в относительных единицах.

В свою очередь, ФПК обратно пропорционален редокс-отношению:

$$\text{ФПК} = A_{\text{НАДН}} / A_{\text{флавины}}, \quad (5)$$

где: $A_{\text{НАДН}}$ – амплитуда излучения флуоресценции восстановленного кофермента никотинамидадениндинуклеотида, $A_{\text{флавины}}$ – амплитуда излучения флуоресценции окисленных флавопротеидов (ФАД) [1, 2, 9].

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного исследования обнаружена флуоресценция восстановленных пиридиннуклеотидов (НАДН) на длине волны 480–490 нм, а также флуоресценция окисленных флавопротеидов на длине волны 520 нм. Однако сами по себе показатели амплитуды флуоресценции указанных флуорофоров на этих длинах волн являются малоинформативными и не несут информации о состоянии микроциркуляторного русла кожи и обменных процессов в ней. Для оценки состояния

микроциркуляторного русла требуется использовать комплексные данные, такие как флуоресцентный показатель потребления кислорода (ФПК), исходя из выражения (5), и показатель эффективности кислородного обмена (ЭКО), находимый по формуле (1), используя и совмещая различные методы: ЛДФ, ОТО и ЛФС.

В результате проведенных исследований методом ЛФД было выявлено, что у женщин в возрасте 45–55 лет по сравнению с женщинами 20–30 лет ФПК снижен на 21%, что может быть объяснено сниженным значением амплитуды флуоресценции НАДН и увеличенным значением амплитуды ФАД (см. формулу 5) (рис. 1).



Рис. 1. Флуоресцентный показатель потребления кислорода у женщин различных возрастных групп

* $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

Показатель ФПК напрямую связан с ЭКО. Обнаружено, что в среднем у женщин в возрасте 45–55 лет эффективность кислородного обмена снижена на 44 % по сравнению с женщинами контрольной группы (рис. 2).



Рис. 2. Эффективность кислородного обмена

* $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

На основании совмещения методов ЛДФ, ЛФД и ОТО получены данные по ЭКО, из которых можно сделать вывод о сниженном показателе микроциркуляции (ПМ) крови кожи лица у женщин опытных групп, поскольку ЭКО прямо пропорциональна среднему значению перфузии по выражению (1). Снижение же перфузии с возрастом, расстройство микроциркуляции, изменение

локального кровотока в органах и тканях, ухудшение их транскапиллярного обмена и кислородного снабжения – давно установленный факт, который подтвержден многими исследователями [1, 4, 6, 8].

Известно, что типовые патологические процессы находят отражение в состоянии энергетических характеристик мембран клетки и характеризуются изменением скорости синтетических и окислительно-восстановительных процессов в цепи переноса электронов. При этом наиболее важные компоненты цепи переноса электронов (НАД⁺/НАДН, ФАД/ФАДН₂, окисленные и восстановленные цитохромы, порфирины и др.) имеют характерные спектры поглощения и флуоресценции, зависящие от окислительно-восстановительного потенциала. Поэтому даже самые незначительные изменения этого параметра проявляются в спектральных характеристиках [7]. Регистрация люминесцентных характеристик таких ключевых компонентов окислительного метаболизма, как НАДН и ФАД, открывает возможность тонкого слежения за состоянием энергетического аппарата клетки. Посредством анализа собственной флуоресценции переносчиков электронов дыхательной цепи можно решать проблемы, связанные с внутриклеточной регуляцией обмена веществ и энергии. Реакции дыхательной цепи – терминального этапа биологического окисления – являются интегральными показателями активности клетки. Спектры поглощения и флуоресценции многих ферментов и коферментов сильно зависят от того, в окисленной или восстановленной форме находятся эти компоненты систем окислительного метаболизма. Соотношение окисленных и восстановленных форм компонентов окислительного метаболизма (то есть скорость выработки энергии) определяется функциональной активностью клетки [8].

Основываясь на спектрах флуоресценции, получаемых при возбуждении излучением, удобно количественно охарактеризовать степень активности внутриклеточных митохондрий параметром ФПК, согласно формуле (5). Получаемый безразмерный параметр может характеризовать степень активности митохондрий и не зависит ни от изменения рассеивающих свойств биообъекта, ни от изменения аппаратных факторов.

Таким образом, полученные данные можно объяснить следующим образом (рис. 3): снижение перфузии приводит к тому, что в ткани поступает меньше кислорода, следовательно, снижается сатурация кислородом смешанной крови. Этому также способствуют многочисленные шунты, через которые артериальная кровь, богатая кислородом, сбрасывается из артериол в вены, минуя капилляры. Снижается индекс удельного потребления кислорода, поэтому в коже у женщин с возрастом будут усиливаться процессы анаэробного гликолиза, что приводит к перестройке в биоэнергетических механизмах клеток кожи. Следствием этого является уменьшение амплитуды флуоресценции восстановленной формы НАДН и увеличение амплитуды флуоресценции окисленной формы ФАД, что было показано методом ЛФД. То есть уменьшается ФПК. Указанные изменения ведут к значительному снижению показателя ЭКО.

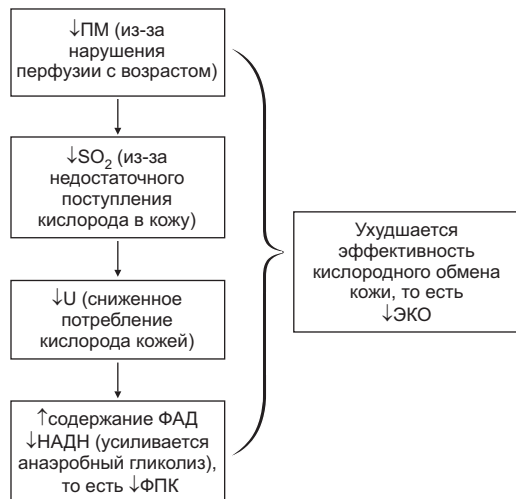


Рис. 3. Взаимосвязь между микроциркуляцией крови, насыщенностью кислородом смешанной крови и флуоресценцией НАДН и ФАД

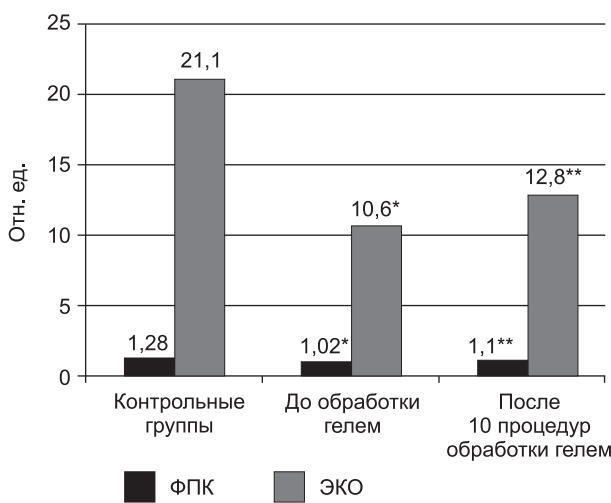


Рис. 4. ФПК и ЭКО после обработки гелем с гиалуроновой кислотой
* $p \leq 0,05$ по отношению к контролю
** $p \leq 0,05$ по отношению к значениям до обработки гелем

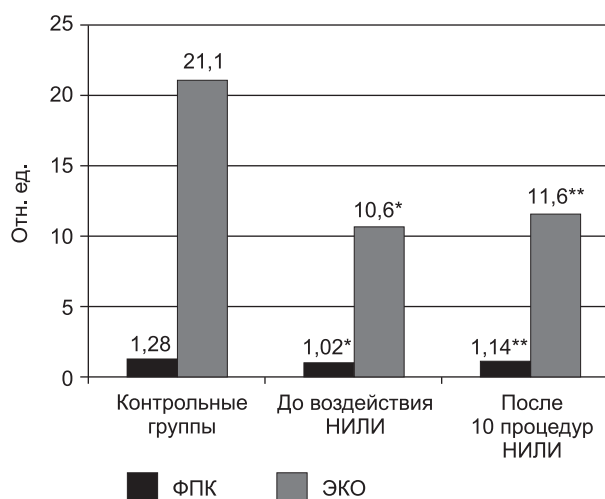


Рис. 5. ФПК и ЭКО после воздействия НИЛИ
* $p \leq 0,05$ по отношению к контролю
** $p \leq 0,05$ по отношению к значениям до обработки гелем

После обработки гелем с гиалуроновой кислотой ФПК увеличился на 17%, ЭКО увеличился на 7% (рис. 4).

После воздействия НИЛИ показатель ФПК увеличился на 11%, а ЭКО повысился в среднем на 15% (рис. 5).

После лазерофореза ГК различными гелями № 1, 2, 3 показатель ФПК увеличился на 14%. После лазерофореза ГК (гель № 1) показатель ЭКО повысился в среднем на 40%, что подтверждает эффективность влияния лазерофореза на процесс местного кровообращения, скорость кровотока и потребление кислорода в коже (рис. 6). После лазерофореза ГК, входящей в состав гелей № 2 и № 3, показатель эффективности кислородного обмена повысился в среднем на 24 и на 28% соответственно.



Рис. 6. ФПК и ЭКО после воздействия лазерофореза
* $p \leq 0,05$ по отношению к контролю
** $p \leq 0,05$ по отношению к значениям до обработки гелем

Если сравнить воздействие только НИЛИ или только обработки гелем ГК с влиянием лазерофореза по этим показателям, то можно отметить значительно больший эффект от воздействия лазерофореза, в чем прослеживается выраженный синергизм действия лазерофореза. Таким образом, подтверждается, что НИЛИ усиливает эффект биологического действия ГК на кожу. Лишь при сочетанном применении воздействия НИЛИ и введения ГК в кожу наблюдается максимальный эффект улучшения микроциркуляции, насыщения клеток кожи кислородом, усиления поглощения кислорода тканями. Проведенные исследования позволили обнаружить сохранение эффекта от воздействия НИЛИ и лазерофорезом в течение 3 месяцев после курса. Показатели снижаются, но не достигают контрольных значений, отмеченных до воздействия, чем подтверждается положительное влияние лазерофореза на клеточном уровне, который мы объясняем улучшением энергетического метаболизма клеток кожи (табл. 2, 3).

Таблица 2
Флуоресцентный показатель потребления кислорода, отн. ед.

	Контроль, n = 20	Гели с ГК, n = 10	НИЛИ, n = 10	Лазерофорез (гель № 1), n = 10
До воздействия	1,28 ± 0,11	1,02 ± 0,03*	1,02 ± 0,07*	1,03 ± 0,03*
После 10-й процедуры		1,1 ± 0,05*	1,14 ± 0,05**	1,21 ± 0,11**
Через 3 месяца после курса		1,05 ± 0,04	1,07 ± 0,05**	1,10 ± 0,04**

* $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

** $p \leq 0,05$ по отношению к измерениям до воздействия

Таблица 3
Эффективность кислородного обмена, отн. ед.

	Контроль, n = 20	Гели с ГК, n = 10	НИЛИ, n = 10	Лазерофорез (гель № 1), n = 10
До воздействия	21,10 ± 1,12	10,6 ± 0,03*	10,6 ± 0,31*	11,1 ± 1,03*
После 10-й процедуры		12,8 ± 0,05*	15,6 ± 0,98**	18,20 ± 1,25**
Через 3 месяца после курса		11,05 ± 0,05	11,50 ± 0,54**	12,3 ± 0,97**

* $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

** $p \leq 0,05$ по отношению к измерениям до воздействия

Комплексные параметры, такие как ФПК и ЭКО, являются более информативными характеристиками состояния микроциркуляции крови и обмена веществ кожи по сравнению с их оценкой отдельными способами. Современный уровень понимания возрастных изменений, происходящих в организме, требует разработки и внедрения более объективных количественных методов системного и комплексного анализа для осмысления инволюционных процессов, происходящих в тканях, органах и системах человека при старении [6].

Таким образом, на основании объективных данных по показателю эффективности кислородного обмена, связывающего параметры микроциркуляции, сатура-

цию кислородом смешанной крови и флуоресценцию НАДН и ФАД, подтверждено положительное влияние НИЛИ и лазерофореза на микроциркуляцию крови кожи лица женщин в возрасте 45–55 лет. Сохранение эффекта наблюдалось в течение трех месяцев после курса из 10 процедур. При этом лучшие результаты были достигнуты при сеансах лазерофореза отечественным гелем с нативной гиалуроновой кислотой ЛАЗМИК®.

Литература

1. Горенков Р.В., Карпов В.Н. и др. Хроническая гипоксия как один из факторов повышенной флуоресценции эндогенных порфиринов в живых биологических тканях // Биофизика. 2007. Т. 52. № 4. С. 711–717.
2. Карнаухов В.Н. Люминесцентный анализ клеток: Электронная версия учебного пособия. Пушкино, 2002. 131 с.
3. Калужная Л.Д., Шармазан С.И., Моисеева Е.В., Бондаренко И.Н. Место гиалуроновой кислоты в проблеме старения кожи // Эстетич. медицина. 2009. № 4 (10). С. 44–46.
4. Козлов В.И. Система микроциркуляции крови: клинико-морфологические аспекты изучения // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2006. Т. 5. С. 84–101.
5. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: Руководство для врачей / Под ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова. М.: Медицина, 2005. 125 с.
6. Оптическая биомедицинская диагностика: Учеб. пособие для вузов / Пер. с англ. под ред. В.В. Тучина: в 2 т. Том 2. М.: Физматлит, 2007. 368 с.
7. Потеев Н.Н., Ткаченко С.Б., Шугина Е.А., Имаева Н.А. Особенности нарушения микроциркуляции при различных типах старения кожи // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2008. № 3. С. 107–110.
8. Прокопьев В.Е. Биофизические механизмы воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения на биологические ткани и оптические методы диагностики их состояния: Автореф. дисс. ... д. физ.-мат. н. Томск, 2004. 45 с.
9. Москвин С.В., Гейниц А.В., Хазов М.Б., Федорищев И.А. Лазерофорез гиалуроновой кислоты и лазерные косметологические программы (технология ЛАЗМИК®). М.–Тверь: Триада, 2010. 96 с.
10. Москвин С.В., Буйлин В.А. Основы лазерной терапии. М.–Тверь: Триада, 2006. 256 с.

Поступила в редакцию 20.10.2011 г.

Для контактов: Москвин Сергей Владимирович
E-mail: 7652612@mail.ru