

# Влияние лазерофореза на показатели флуоресценции, липофусцина, коллагена и эластина в коже лица

Авторами приведены материалы и результаты исследования влияния лазерофореза геля с гиалуроновой кислотой «ЛАЗМИК» на показатели флуоресценции липофусцина, коллагена и эластина в коже лица у женщин старших возрастных групп. Было показано, что с возрастом существенно повышается уровень липофусцина, наблюдается деструктуризация коллагена и эластина. Лазерофорез геля с гиалуроновой кислотой «ЛАЗМИК» позволяет существенно снизить уровень липофусцина в клетках кожи, что косвенно подтверждает положительное влияние метода на антиоксидантную систему. После курса лазерофореза геля «ЛАЗМИК» наблюдается частичное восстановление коллаген-эластинового матрикса. Этот эффект сохраняется в течение 1 месяца.

Сочетанное применение низкоинтенсивного лазерного излучения и препаратов гиалуроновой кислоты — лазерофореза — позволяет предположить синергизм и высокую эффективность их совместного действия на кожу.

**Ключевые слова:** лазерное излучение; лазерофорез; флуоресценция; липофусцин; коллаген; эластин

**С. В. Москвин**<sup>1</sup>

**Е. В. Антипов**<sup>2</sup>

**Е. Г. Зарубина**<sup>3</sup>

**Е. А. Рязанова**<sup>4</sup>

<sup>1</sup>**Москвин Сергей Владимирович**, д.б.н., к.т.н., профессор кафедры восстановительной медицины ФГОУ ДПО ИПК ФМБА России, ФГУ «Государственный научный центр лазерной медицины ФМБА России» г. Москва

E-mail: 7652612@mail.ru

<sup>2</sup>**Антипов Евгений Валерьевич**, аспирант кафедры медико-биологических дисциплин НОУ ВПО «Самарский медицинский институт «Реавиз»» г. Самара

E-mail: eugantipov@gmail.com

<sup>3</sup>**Зарубина Елена Григорьевна**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой медико-биологических дисциплин НОУ ВПО «Самарский медицинский институт «Реавиз»» г. Самара

E-mail: e-zarubina@yandex.ru

<sup>4</sup>**Рязанова Елена Анатольевна**, к.м.н., сотрудник ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздравсоцразвития РФ» г. Москва

E-mail: elena-ruaz@mail.ru

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время флуоресцентные методы исследования все более широко внедряются в область диагностики, как общемедицинской, так и эстетической. Флуоресцентная спектроскопия в применении к исследованию кожи человека *in vivo* является наиболее развитым и доступным методом [9, 11–15]. В научных публикациях широко обсуждаются вопросы применения в практической медицине методов оптической неинвазивной диагностики, основанной на принципах спектрофотометрии и лазерного спектрального анализа [15]. Методы лазерной флуоресцентной диагностики при этом могут использоваться для оценки возрастных изменений кожи, что является сегодня особенно актуальным в связи с ростом интереса к проблемам ухода за кожей, коррекции дефектов внешности, профилактики преждевременного старения. В последнее время появились эффективные и безопасные методы, с помощью которых можно устранить морщины, повысить упру-

гость кожи, улучшить ее цвет, «стереть» пигментные пятна [6, 8].

К наиболее перспективным и современным направлениям относится применение воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) в сочетании с различными лекарственными средствами, в частности препаратами гиалуроновой кислоты (ГК) — лазерофорез. Сочетанное применение НИЛИ и ГК позволяет предположить синергизм и высокую эффективность их совместного действия на кожу [5].

Ткани человека содержат огромное число разнообразных природных флуорофоров с различными спектральными областями флуоресценции. Некоторые из них имеют перекрывающиеся области флуоресценции, поэтому полученное от тканей излучение флуоресценции отличается очень сложным спектральным составом. При наличии различных патологических процессов в тканях, а также в результате естественных процессов, происходящих при старении организма, изменяется относительное содержание флуорофоров. К эндогенным флуорофорам биологических тканей относятся следующие вещества: компоненты систем энергетического обмена — восстановленные пиридиннуклеотиды (НАДН, НАДФН), окисленные флавопротеиды, липофусцин, коллаген, эластин. При этом каждый флуорофор имеет характерные спектры поглощения и эмиссии. Меняется также пространственная структура (морфология) ткани, что приводит к изменению ее оптических и спектральных характеристик [11, 12].

*Целью данной работы* является оценка влияния лазерофореза геля с гиалуроновой кислотой (ГК) на показатели флуоресценции липофусцина, коллагена и эластина в коже лица у женщин старших возрастных групп.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами было обследовано 30 женщин в возрасте от 20 до 55 лет. Исследования проводились на основе добровольного информированного согласия больных в соответствии со всеми международными этическими требованиями, которые предъявляются к исследованиям с участием человека. В контрольную группу были отнесены 20 практически здоровых молодых женщин в возрасте от 20 до 30 лет. В группу исследования вошли 10 женщин в возрасте от 30 до 55 лет без выраженных патологий, которым проводился лазерофорез геля с ГК «ЛАЗМИК» («Космотерос», Россия) [2].

Наружное безыглекционное введение ГК в кожу осуществлялось воздействием НИЛИ с помощью аппарата лазерной и лазерно-вакуумной терапии «ЛАЗМИК» (Научно-исследовательский центр «Матрикс», Россия) (излучающая головка КЛО-780-90 со специальной насадкой «ЛАЗМИК», длина волны 780–785 нм, непрерывный режим, средняя мощность 40–50 мВт).

Исследования флуоресценции кожи у пациентов проводились на многофункциональном диагностическом комплексе «ЛАКК-М» («Лазма», Россия) [5]. Измерения осуществлялись методом лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД), который заключается в регистрации спектра вторичного излучения ткани при ее зондировании лазерным излучением на длине волны, соответствующей длине волны максимального поглощения излучения определенным ферментом. Для возбуждения флуоресценции ферментов в комплексе «ЛАКК-М» применялись источники на трех длинах волн: 365 нм, 532 нм и 630 нм, что позволяло оценивать интенсивность излучения флуоресценции различных ферментов окислительного метаболизма и пигментов. Оценивалась флуоресценция липофусцина, коллагена и эластина кожи.

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

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

где  $I_f$  — максимум (пик) интенсивности в линии флуоресценции фермента,

$I_l$  — максимум в интенсивности пика в лазерной линии [5].

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

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета анализа Microsoft Office Excel 2007, Statistica 8 и Med Stat 8.05. Определяли среднее значение параметров и ошибку среднего. Производился корреляционный анализ, однофакторный дисперсионный анализ, использовали t-критерий Стьюдента. Для анализа таблиц сопряженности непараметрических признаков использовался критерий  $\chi^2$ . Достоверность различий считали статистически значимой при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения в показателях интенсивности флуоресценции можно рассматривать в качестве изме-

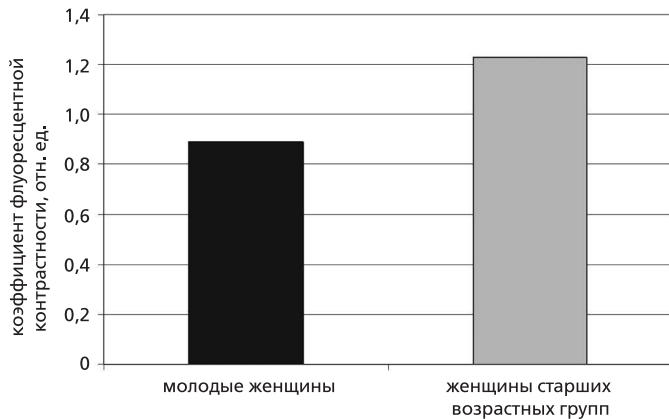


Рис. 1. Коэффициент флуоресцентной контрастности липофусцина

нения относительных концентраций данных веществ-метаболитов в ткани. Исследования показали зависимость между возрастанием коэффициента флуоресцентной контрастности липофусцина кожи лица и хронологическим возрастом испытуемых. В результате проведенных исследований обнаружена флуоресценция внутриклеточного пигмента старения – липофусцина (его гранулы в последнее время предложено называть каротиноксисомами [3]) на длинах волн 560 нм, 570 нм, 608 нм в ультрафиолетовой и желтой областях спектра. В спектрах флуоресценции кожи женщин старших возрастных групп, кроме полос излучения восстановленных пиридиннуклеотидов (490 нм) и окисленных флавопротеидов (520 нм) появляется более выраженная, чем у молодых женщин, дополнительная полоса излучения с максимумом 560–565 нм, что подтверждается многочисленными исследованиями. Возможно, что флуоресценция липофусциновых гранул обязана своим происхождением каротиноидам, являющимся составной частью этих гранул. Спектры флуоресценции отдельных гранул липофусцина состоят из полос флуоресценции отдельных соединений. Вариации относительных интенсивностей этих полос определяют форму результирующего спектра флуоресценции. Не исключена возможность, что среди входящих в состав липофусциновых гранул флуоресцирующих соединений есть перекисленные ненасыщенные жирные кислоты [3]. Выявлено увеличение на 28% коэффициента флуоресцентной контрастности у женщин старших возрастных групп ( $1,23 \pm 0,08$ ) по сравнению с данным коэффициентом у молодых женщин ( $0,89 \pm 0,11$ ) (рис. 1).

Различия в показателях коэффициента флуоресцентной контрастности липофусцина у молодых

женщин и женщин старших возрастных групп связаны с тем, что с возрастом происходит накопление гранул липофусцина в клетках. В большом количестве публикаций отмечено накопление липофусцина в клетках, как при старении, так и при патологических процессах. Известно, что при наличии патологии количество липофусцина в клетках может резко увеличиваться, особенно при атрофических процессах возрастного характера, истощающих заболеваниях и т.п. В связи с этим липофусцин долгое время рассматривали как «пигмент изнашивания», «пигмент старения».

Липофусцин представляет собой липопротеид, образование которого связано с окислительным процессом, что говорит об активном участии этого пигмента в обмене цитоплазмы. В норме он накапливается в организме животных и человека по мере их роста и старения. В зависимости от возраста, условий образования и места локализации липофусцин различается по гистохимическим и ультраструктурным характеристикам, спектрам флуоресценции и поглощения, растворимости в органических растворителях, накапливается в лизосомах. Пигменты липидной природы образуются в результате аутоокисления ненасыщенных жирных кислот и последующей полимеризации продуктов окисления. При этом наблюдается появление гидроперекисей, которые могут циклизоваться с образованием полимеров. Причиной образования липофусцина считают повреждение в процессе перекисного окисления липидов мембран клеточных органелл [2, 10, 14].

В результате проведенных исследований выявлено достоверное, в среднем на 12%, уменьшение значения коэффициента флуоресцентной

Таблица 1

**Коэффициент флуоресцентной контрастности липофусцина, отн. ед.**

	Контроль (молодые женщины), n=20	Лазерофорез геля с ГК «ЛАЗМИК» у женщин старших возрастных групп, n=10
До воздействия	0,89±0,11	1,31±0,18
После 1-й процедуры		1,30±0,15
После 10-й процедуры		1,15±0,25

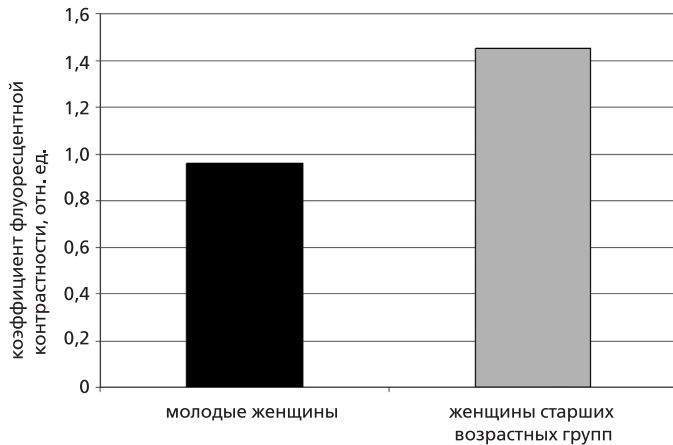


Рис. 2. Коэффициент флуоресцентной контрастности коллагена и эластина

контрастности липофусцина после лазерофореза геля с гиалуроновой кислотой (табл. 1).

В результате проведенных исследований обнаружена флуоресценция коллагена и эластина на длине волны 420 нм в ультрафиолетовой части спектра. Выявлено увеличение в среднем на 33% коэффициента флуоресцентной контрастности коллагена и эластина у женщин старших возрастных групп ( $1,45 \pm 0,18$ ) по сравнению с его величиной у молодых женщин ( $0,96 \pm 0,21$ ) (рис. 2).

Различия в показателях коэффициента флуоресцентной контрастности коллагена и эластина у молодых женщин и женщин старших возрастных групп связаны с тем, что с возрастом наблюдается нарушение метаболизма коллагена, приводящее к увеличению его содержания в дерме. Известно, что амплитуда флуоресценции коллагена кожи у пожилых возрастает [12]. С возрастом наблюдается дистрофия соединительной ткани, происходит уплотнение и огрубление коллагеновых и эластиновых волокон [1]. Фиброзная гипертрофия интерстициальной соединительной ткани и последующее ослабление коллагенового каркаса приводят к уменьшению эластичности кожи, избытку кожи на лице и шее, а также к формированию глубоких морщин [7].

Флуоресценция коллагена и эластина может служить в качестве критерия для диагностики различных патологических состояний, а также изучения процессов старения кожи. Такая флуоресценция может дать информацию о структуре эпидермиса и дермы, а также плотности и количестве кровеносных сосудов, концентрации и пространственном распределении хромофоров и флуорофоров в метаболических процессах кожи [11, 12].

В результате проведенных исследований обнаружено снижение коэффициента флуоресцентной контрастности коллагена и эластина после воздействия лазерофореза геля с ГК в среднем на 11,7% (табл. 2).

Результаты изменения флуоресценции липофусцина, коллагена и эластина сохранялись не более 1 месяца после окончания курса лазерофореза.

## ВЫВОДЫ

Флуоресценция липофусцина, коллагена и эластина может служить в качестве критерия при диагностике различных патологических состояний, а также при изучении процессов старения кожи. Метод лазерной флуоресцентной диагностики может эффективно применяться в косметологической практике для оценки эффективности биологического воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения на процессы микроциркуляции кожи у пациентов старших возрастных групп, для количественного анализа эритемы и пигментации кожи, определения вариаций ее цвета, мониторинга эффективности дерматологического лечения.

Показано, что с возрастом существенно повышается уровень липофусцина, наблюдается деструктуризация коллагена и эластина.

Лазерофорез геля с гиалуроновой кислотой «ЛАЗМИК» позволяет существенно снизить уровень липофусцина в клетках кожи, что косвенно подтверждает положительное влияние метода на антиоксидантную систему. Наблюдается частичное восстановление структуры коллаген-эластинового матрикса. Эффект сохраняется до 1 месяца. ■

Таблица 2

### Коэффициент флуоресцентной контрастности коллагена и эластина, отн. ед.

	Контроль (молодые женщины), n=20	Лазерофорез геля с ГК «ЛАЗМИК» у женщин старших возрастных групп, n=10
До воздействия	0,96±0,21	1,28±0,08*
После 1-й процедуры		1,25±0,15
После 10-й процедуры		1,13±0,05**

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

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

## ЛИТЕРАТУРА

1. Деркач Н.Н., Коржов М.В., Коржов В.И. О возможности коррекции некоторых биохимических процессов в коже при старении // Укр. журнал дерматологии, венерологии и косметологии. – 2009. – № 3. – С. 45–49.
2. Ефимов А.А., Маслякова Г.Н. О роли липофусцина в инволютивных и патологических процессах // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 5, № 1. – С. 111–115.
3. Карнаухов В.Н. Люминесцентный анализ клеток. Электронная версия учебного пособия. – Пущино, 2002.
4. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. Руководство для врачей / Под ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова. – М.: Медицина, 2005. – 125 с.
5. Лазерфорез гиалуроновой кислоты и лазерные косметологические программы (технология ЛАЗМИК®) / Москвин С.В., Гейниц А.В., Хазов М.Б., Федорищев И.А. – М. – Тверь: Триада, 2010. – 96 с.
6. Москвин С.В. Системный анализ эффективности управления биологическими системами низкоинтенсивным лазерным излучением / Автореф. дисс... д-ра биол. наук. – Тула, 2008. – 36 с.
7. Пономаренко Г.Н. Физиотерапия в косметологии. – СПб.: ВМедА, 2002. – 356 с.
8. Рязанова Е.А. Физические способы восстановительной медицины в дерматокосметологии / Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Тула, 2007. – 23 с.
9. Синичкин Ю. П., Утц С. Р. *In vivo* отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2001. – 122 с.
10. Татарюнас А.Б. Липофусцин в старении и патологии / Автореф. дисс... д-ра биол. наук. – Вильнюс, 1999. – 41 с.
11. Тучин В.В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1998. – 383 с.
12. Тучин В.В. Оптическая биомедицинская диагностика // Известия Саратовского университета. – 2005. – Т. 5, сер. «Физика», вып. 1. – С. 39–53.
13. Хроническая гипоксия как один из факторов повышенной флуоресценции эндогенных порфиринов в живых биологических тканях / Горенков Р.В., Карпов В.Н., Рогаткин Д.А., Шумский В.И. // Биофизика. – 2007. – Т. 52, № 4. – С. 711–717.
14. Brunk U.T., Terman A. Lipofuscin: mechanisms of age-related accumulation and influence on cell function // Free Radic. Biol. Medicine. – 2002. – № 5. – P. 611–619.
15. Zellweger M. Fluorescence spectroscopy of exogenous, exogenously – induced and endogenous fluorophores for the photodetection and photodynamic therapy of cancer. – Lausanne. – Fevrier, 2000.