

Эффективность кислородного обмена после применения лазерофореза различных гелей на основе гиалуроновой кислоты

В работе исследуется влияние воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и лазерофореза гелей с гиалуроновой кислотой на метаболические процессы в клетках кожи лица, в частности на микроциркуляцию и эффективность кислородного обмена.

Особенностью исследования является комплексное использование нескольких методов: диагностики микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии, оптической тканевой оксиметрии и лазерной флуоресцентной диагностики, что позволяет оценить не только параметры тканей в целом (например, микроциркуляции), но и клеточный метаболизм. На основании полученных данных по показателю эффективности кислородного обмена, связывающего параметры микроциркуляции, сатурацию кислородом смешанной крови и флуоресценцию пиридиннуклеотидов и флавопротеидов, подтверждено положительное влияние НИЛИ и лазерофореза на микроциркуляцию крови в коже 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

С. В. Москвин¹

Е. В. Антипов²

Е. Г. Зарубина³

Е. А. Рязанова⁴

¹**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»
Москва

E-mail: 7652612@mail.ru

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

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

⁴**Рязанова Елена Анатольевна**, к.м.н., сотрудник Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова
Москва

⁵ВЭМ №2, 2011, с. 58–65.

ВВЕДЕНИЕ

Настоящая статья является продолжением предыдущей нашей публикации в «Вестнике эстетической медицины» (ВЭМ)⁵, посвященной исследованию изменений микроциркуляции в коже лица у женщин старших возрастных групп под действием низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и лазерофореза гелей с гиалуроновой кислотой (ГК) [5]. Эта работа проводится на кафедре медико-биологических дисциплин НОУ ВПО «Самарский медицинский институт «Реавиз»».

Особенность нашего исследования заключается в комплексном использовании нескольких методов: диагностики микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), оптической тканевой оксиметрии (ОТО) и лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД) [3, 6]. Это позволяет оценить не только параметры тканей в целом (например, микроциркуляцию), но и клеточный метаболизм. Таким образом, мы рассмат-

риваем биологическую систему физиологического регулирования (кожи человека) в целом, во взаимодействии клеток, тканей и кровеносной системы, а не отдельные ее части.

Хотя внешние признаки старения кожи хорошо заметны, методы объективной количественной их оценки, которые могли бы стать одновременно и биомаркерами старения организма в целом, не разработаны детально.

При наличии различных патологических процессов в тканях, а также в результате естественных процессов, происходящих при старении организма, изменяется относительное содержание флуорофоров. Одними из наиболее интересных объектов исследования являются компоненты систем энергетического обмена – восстановленные пиридиннуклеотиды (НАДН, НАДФН) и окисленные флавопротеиды (флавинадениндинуклеотид, ФАД). При этом каждый флуорофор имеет характерные спектры поглощения и эмиссии. С возрастом меняется также пространственная структура (морфология) ткани, что приводит к изменению ее оптических и спектральных характеристик [6, 9].

Однако до сих пор остается открытым вопрос о связи флуоресценции НАДН и ФАД с системой микроциркуляции, хотя понятно, что комплексная оценка этих показателей позволяет более объективно судить о состоянии энергетического метаболизма кожи, в частности под воздействием НИЛИ и лазерофореза.

Целью настоящей работы стала оценка флуоресцентного показателя потребления кислорода и показателя эффективности кислородного обмена у женщин старших возрастных групп до и после воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения и лазерофореза различных гелей на основе ГК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Состав групп исследования подробно изложен в предыдущей нашей работе [5]. Нами было обследовано 60 женщин без выраженных патологий в возрасте от 20 до 55 лет. В контрольную группу были отнесены 20 практически здоровых молодых женщин в возрасте от 20 до 30 лет. Параметры микроциркуляции у молодых женщин были приняты нами за контрольные цифры, условно за норму. Были сформированы 4 опытные группы, в каждой по 10 женщин в возрасте от 45 до 55 лет. В трех опытных группах применяли лазерофорез гелей с ГК: гель №1 – «ЛАЗМИК» (Россия), №2 – Hialurox (Испания), №3 – BYONIK-

Таблица 1

Гели с гиалуроновой кислотой, используемые в исследовании

№ п/п	№1	№2	№3
Наименование	«ЛАЗМИК»	Hialurox	BYONIK-Hyaluronic Gel XOO
Содержание ГК, %	1,5	1,5	1,5
Размеры молекулы, нм	250–1000	250	250

Hyaluronic Gel XOO (Германия); в 4-й опытной группе применяли только НИЛИ (табл. 1, представлены данные, полученные от производителей).

Лазерофорез ГК проводили после 30-минутного отдыха пациента. Использовали аппарат 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 работы, средняя мощность – 40–50 мВт. Время воздействия – 0,5–1 мин. на зону, общее время воздействия (на все лицо) – 10 мин.

Измерения параметров исследования проводили с помощью комбинированного применения методов ЛДФ, ОТО и ЛФД на многофункциональном диагностическом комплексе «ЛАКК-М» («Лазма», Россия) [3]. Зонд устанавливался на височную область. При этом для оценки транспорта кислорода в микроциркуляторном русле и потребления кислорода тканью использовался комплексный показатель – эффективность кислородного обмена (ЭКО), определяемый по формуле:

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

где M – среднее значение перфузии (показатель микроциркуляции),
U – индекс удельного потребления кислорода,
ФПК – флуоресцентный показатель потребления кислорода ферментов, участвующих в дыхательной цепи.

Методом ЛДФ определялся показатель микроциркуляции (ПМ) в соответствии со следующим выражением:

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

где K – коэффициент пропорциональности, $N_{эp}$ – число эритроцитов в исследуемом (зондируемом) объеме ткани, V_{cp} – средняя скорость движения эритроцитов. Определение (в %) сатурации кислородом смешанной крови (SO_2) в микроциркуляторном русле методом ОТО определялось в соответствии со следующей формулой:

$$SO_2 = D_{O_2Hb} / (D_{O_2Hb} + D_{Hb}), \quad (3)$$

где D_{O_2Hb} и D_{Hb} – доли света, поглощаемые оксигенированной и дезоксигенированной фракциями гемоглобина соответственно. Комплексный показатель микроциркуляции крови – индекс удельного потребления кислорода в ткани (U) – определяли в относительных единицах по формуле:

$$U = SpO_2 / SO_2, \quad (4)$$

где SpO_2 – сатурация кислородом артериальной крови (определяется пульсоксиметрией), SO_2 – сатурация кислородом смешанной крови. В свою очередь ФПК обратно пропорционален редокс-отношению:

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

где $A_{НАДН}$ – амплитуда излучения флуоресценции восстановленного кофермента никотинамидадениндинуклеотида,

$A_{флавины}$ – амплитуда излучения флуоресценции окисленных флавопротеидов (ФАД) [3].

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

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 не несут информации о состоянии микроциркуляторного русла кожи и обменных процессов в ней. Для оценки такого состояния требуется:

- использование комплексных показателей – ФПК и ЭКО, определяемых по формулам (5) и (1);
- сочетание различных методов исследования – лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), оп-

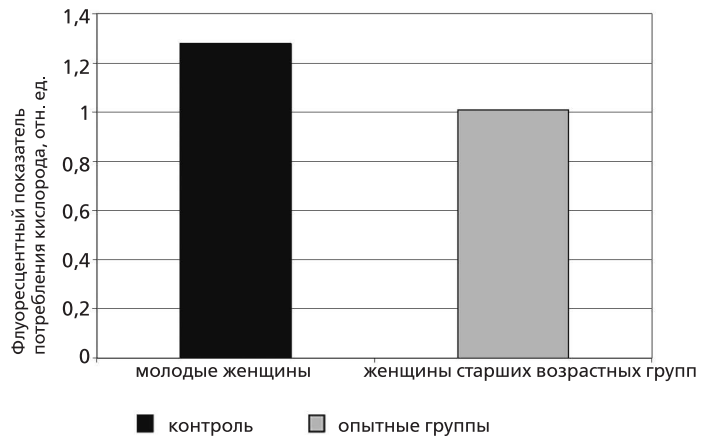


Рис. 1. Флуоресцентный показатель потребления кислорода

Таблица 2

Флуоресцентный показатель потребления кислорода, отн. ед.

Группы	ФПК
Контроль (молодые женщины), n=20	1,28±0,11
Опытные группы (женщины старших возрастных групп), n=40	1,01±0,09*

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

тической тканевой оксиметрии (ОТО) и лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД). Анализ данных, полученных методом ЛФД, показал, что у женщин старшего возраста ФПК меньше на 21% по сравнению с этим показателем у молодых женщин, что может быть объяснено сниженным значением амплитуды флуоресценции НАДН и увеличенным значением амплитуды ФАД (см. формулу 5) (рис. 1, табл. 2).

Показатель ФПК напрямую связан с ЭКО. Обнаружено, что в среднем у женщин старших возрастных групп эффективность кислородного обмена снижена на 44% по сравнению с молодыми женщинами (рис. 2, табл. 3).

Совмещая методы ЛДФ, ЛФД и ОТО, мы получили данные по ЭКО, из которых можно сделать вывод о сниженном показателе микроциркуляции (ПМ) крови в коже лица женщин старших возрастных групп по сравнению с молодыми женщинами. Значение ЭКО прямо пропорционально среднему значению перфузии по выражению (1). Снижение же перфузии с возрастом – давно установленный факт, который объясняется процессами старения кожи, сопровождающимися вазоконстрикцией артериол и капилляров. Последнее

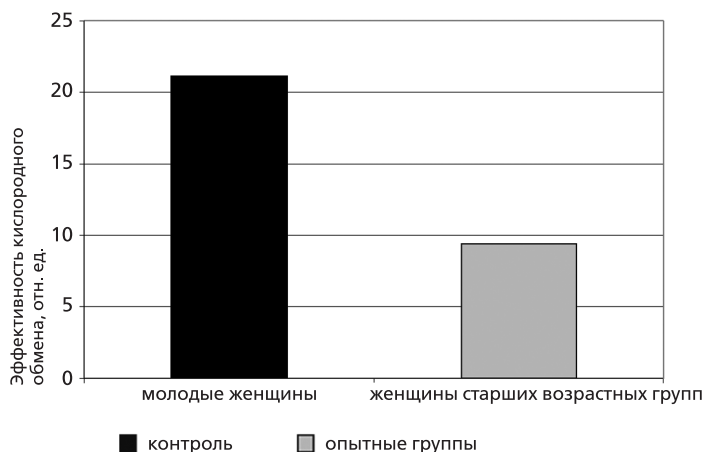


Рис. 2. Эффективность кислородного обмена

Таблица 3

Эффективность кислородного обмена, отн. ед.

Группы	Эффективность кислородного обмена
Контроль (молодые женщины), n=20	21,1±1,79
Опытные группы (женщины старшего возраста), n=40	9,40±1,55*

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

приводит к ишемии и венозно-лимфатическому застою в тканях. Расстройство микроциркуляции, выражающееся в снижении ПМ, подтверждено многими исследователями [7]. Изменения на уровне артериол проявляются в виде снижения их тонуса, увеличения объема крови в артериолах и наличия застойных явлений в резистивных и нутритивных сосудах микроциркуляторного русла [7].

Снижение ПМ у женщин старшего возраста по сравнению с молодыми женщинами связано с нарушением микроциркуляции при старении, которое является обязательным компонентом развития большинства воспалительных, дистрофических и инволюционных процессов, так как вызывает изменения функций и структуры клеток. Изменяется локальный кровоток в органах и тканях, ухудшается их транскапиллярный обмен и кислородное снабжение.

Известно, что деформирующие процессы в капиллярах совпадают с процессами старения кожи человека и начинаются в 40–45 лет. Капилляропатия увядающей кожи, особенно в климактерическом периоде, обусловлена такими изменениями в капиллярах, как атрофия эндотелия, ухудшение его проницаемости и иннервации.

Одним из ранних признаков нарушений микроциркуляции кожи являются локальный спазм приносящих артериолярных сосудов, застойные явления в посткапиллярно-венулярных сосудах и снижение интенсивности кровотока в нутритивном звене капиллярного русла [2].

Многочисленные исследования показали, что при прекращении активной вазомоции в той части капиллярного русла, в которой сопротивление кровотоку выше, объемная скорость кровотока снижается и появляются признаки стаза, а в самих тканях преобладающим становится анаэробный метаболизм. Потеря вазомоции ведет к шунтированию кровотока, в результате чего большая часть крови, поступающая в микроциркуляторное русло кожи, движется по меньшей части капилляров. При развитии патологического процесса, связанного с объемным дефицитом капиллярного кровотока, страдают тонкие механизмы, регулирующие транскапиллярный массоперенос и обменные процессы в тканях [2].

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 т. д.) имеют характерные спектры поглощения и флуоресценции, зависящие от окислительно-восстановительного потенциала. Поэтому даже самые незначительные изменения этого параметра проявляются в спектральных характеристиках [8]. Регистрация люминесцентных характеристик таких ключевых компонентов окислительного метаболизма, как НАДН и ФАД, дает возможность следить за состоянием энергетического аппарата клетки. Посредством анализа 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 в большой степени зависят от того, в окисленной или восстановленной форме они находятся. Соотношение этих форм компонентов окислительного метаболизма (то есть скорость выработки энергии) определяется функциональной активностью клетки [1].

К числу веществ, флуоресцирующих в синей и желтой областях спектра, относятся такие важ-

нейшие и встречающиеся у любых представителей живой природы компоненты систем энергетического обмена, как восстановленные пиридиннуклеотиды (НАДН, НАДФН) и окисленные флавопротеины [1]. Пиридиннуклеотиды и флавопротеины находятся в различных звеньях энергопроизводящих систем клетки: гликолизе, пентозофосфатном цикле, цикле Кребса, системе окисления жирных кислот и различных путях терминального окисления. Восстановленные формы НАД и НАДФ обладают характерными спектрами поглощения, состоящими из двух полос в УФ-области (260 и 340 нм) и одной полосы в интервале 465–480 нм. При собственной флуоресценции, максимум которой лежит в переходе НАД и НАДФ в окисленное состояние, они теряют полосу поглощения 340 нм и способность к люминесценции, как это было установлено О. Варбургом (O. Warburg) [1].

При связывании НАД и НАДФ с их дегидрогеназами максимум полосы люминесценции сдвигается в сторону более коротких длин волн — до 440 нм, и ее интенсивность возрастает. Производные рибофлавина — флавиномононуклеотид (ФМН) и флавинадениндиклеотид (ФАД) — являются простетическими группами многих флавопротеиновых компонентов терминального окисления. Окисленные формы ФМН и ФАД обладают характерными спектрами поглощения и собственной люминесценции. При переходе этих групп в восстановленное состояние они теряют полосы поглощения 450 нм и собственной люминесценции. Присоединение ФМН и ФАД к белковой части молекулы фермента приводит к изменению спектра поглощения, разному для разных флавопротеинов. Наиболее часто, однако, в видимой области происходит сдвиг полосы поглощения с 450 к 465 нм и появляется характерное плечо на кривой поглощения в области 480–490 нм.

Физико-химические характеристики флавопротеинов усиленно исследовались в последние годы в связи с возможностью использования этих коферментов, а также пиридиннуклеотидов в качестве внутриклеточных меток активности энергетического аппарата. Пиридиннуклеотиды флуоресцируют только в восстановленном состоянии (460–490 нм) и теряют способность флуоресцировать при переходе в окисленное состояние. Флавопротеины, наоборот, флуоресцируют только в окисленном состоянии (520–530 нм) и теряют способность к флуоресценции при переходе в восстановленную форму. Переход из состояния покоя в состояние активного обмена сопровождается увеличением концентрации окисленных форм пиридиннуклеотидов (НАД), флавопротеинов (ФАД) и цитохромов и соответствующим

уменьшением концентрации их восстановленных форм. Ткани, находящиеся в состоянии активного обмена, характеризуются спектрами с примерно одинаковыми интенсивностями полос восстановленных пиридиннуклеотидов и окисленных флавопротеинов. Скорость переноса электронов по дыхательной цепи при этом максимально высока. Для тканей, находящихся в состоянии покоя, характерно выраженное преобладание восстановленных пиридиннуклеотидов [1].

Основываясь на спектрах флуоресценции, получаемых при возбуждении внешним излучением, можно определить количественно степень активности внутриклеточных митохондрий, используя параметр ФПК, согласно формуле (5). Получаемая безразмерная величина не зависит от изменения рассеивающих свойств биообъекта и параметров измерения.

Исходя из всего вышеизложенного, связь между микроциркуляцией, сатурацией и флуоресценцией НАДН и ФАД можно представить в виде схемы (рис. 3). Очевидно, что в результате снижения перфузии в ткани притекает мало кислорода, следовательно, снижается сатурация кислородом смешанной крови. Этому также способствуют многочисленные шунты, через которые артериальная кровь, богатая кислородом, попадает из артериол в вены, минуя капилляры. Снижается индекс удельного потребления кислорода, поэтому в коже у женщин старших возрастных групп будет преобладать анаэробный гликолиз, что вызывает перестройку в биоэнергетических процессах клеток кожи. Это приводит к уменьшению амплитуды флуоресценции восстановленной формы НАДН и увеличению амплитуды флуоресценции окисленной формы ФАД, что было показано методом ЛФД. Следовательно, флуоресцентный показатель потребления кислорода (ФПК) уменьшается. Указанные изменения ведут к значительному снижению показателя эффективности кислородного обмена (ЭКО).

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

После применения лазерофореза ГК гелями № 1, 2, 3 показатель ФПК увеличивался в среднем на 14%.

После лазерофореза ГК, входящей в состав гелей №2 и №3, показатель ЭКО повысился в среднем на 24% и 28% соответственно. После лазерофореза геля №1 — на 40%. Таким образом, подтверждается эффективность влияния лазерофореза на процесс местного кровообращения, скорость кровотока и потребление кислорода в коже.

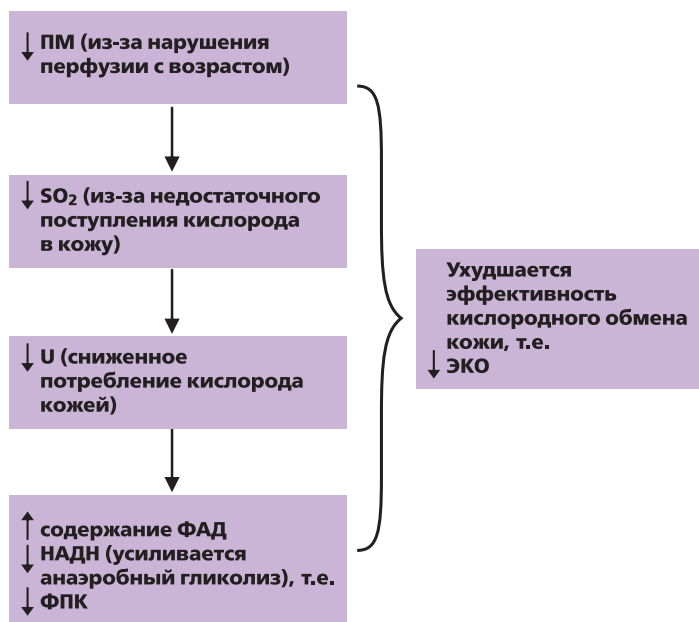


Рис. 3. Взаимосвязь между микроциркуляцией, сатурацией кислородом смешанной крови и флуоресценцией НАДН и ФАД

Если сравнить воздействие одного только НИЛИ с влиянием лазерофореза по этим показателям,

то можно видеть значительно больший эффект от воздействия лазерофореза, в чем прослеживается выраженный синергизм действия его составляющих.

ВЫВОДЫ

Комплексные параметры, такие как ФПК и ЭКО, являются более информативными характеристиками состояния микроциркуляции крови и обмена веществ кожи по сравнению с отдельными показателями. 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 [4, 5].

На основании объективных данных по показателю эффективности кислородного обмена (ЭКО), связывающего параметры микроциркуляции, сатурацию кислородом смешанной крови и флуоресценцию НАДН и ФАД, подтверждено положительное

Дерматовенерология и дерматокосметология сегодня – возможное и реальное

V Российская научно-практическая конференция

Санкт-Петербургские Дерматологические чтения

3-4 ОКТЯБРЯ 2011

Санкт-Петербург, Отель «Парк Инн Прибалтийская»

(ул. Кораблестроителей, 14), бесплатный автобус от станции метро «Приморская»

Темы конференции:

- Дерматовенерология: инновационные методы диагностики и терапии
- Микология — что нового для дерматовенерологов и дерматокосметологов
- ИППП: превенция + лечение = контроль?
- Неврологические аспекты в дерматокосметологии и дерматовенерологии
- Возрастные изменения кожи
- Дерматозы в детском и пожилом возрасте
- Заболевания кожи детей
- Наследственные заболевания в дерматологии. Генодерматозы
- Диетическое питание при заболеваниях кожи
- Косметология — практические решения актуальных задач
- Круглый стол по косметологии «Метаболический синдром — мультидисциплинарная проблема»
- Кожные проявления заболеваний обмена веществ

В рамках конференции состоятся:

- Симпозиум по перманентному макияжу и эстетической дермопигментации
- Отборочный тур VIII Открытого чемпионата России по косметологии и массажу
- Отборочный тур X Открытого чемпионата России по перманентному макияжу «Контур века»
- Симпозиумы и мастер-классы ведущих фармацевтических компаний

ВЫСТАВКА ЛУЧШИХ ОБРАЗЦОВ КОСМЕТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

реклама

влияние НИЛИ и лазерофореза на микроциркуляцию крови в коже лица женщин старших возрастных групп. При этом лучшие результаты показал лазерофорез отечественного геля с нативной гиалуроновой кислотой «ЛАЗМИК». Возможные при-

чины этого мы будем обсуждать в следующей статье, где рассмотрим влияние НИЛИ и лазерофореза на состояние антиоксидантной системы, белкового комплекса, а также пролонгированность действия данных методов воздействия на кожу. ■

ЛИТЕРАТУРА

1. Карнаухов В.Н. Люминесцентный анализ клеток. Электронная версия учебного пособия. – Пущино, 2002.
2. Козлов В.И. Система микроциркуляции крови: клиничко-морфологические аспекты изучения // Региональное кровообращение и микроциркуляция – 2006. – Т. 5. – С. 84–101.
3. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. Руководство для врачей / Под ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова – М.: Медицина, 2005. – 125 с.
4. Место гиалуроновой кислоты в проблеме старения кожи / Калюжная Л.Д., Шармазан С.И., Моисеева Е.В., Бондаренко И.Н. // Эстетична медицина. – 2009. – Т. 10, №4. – С. 44–46.
5. Низкоинтенсивное лазерное излучение и лазерофорез гелей с гиалуроновой кислотой: сравнительная оценка показателей микроциркуляции / Москвин С.В., Антипов Е.В., Зарубина Е.Г., Рязанова Е.А // Вестник эстетич. медицины. – 2011. – Т. 10, №2. – С. 58–65.
6. Оптическая биомедицинская диагностика: учеб. пособие для вузов / Пер. с англ. под ред. В.В. Тучина: в 2 т. Т. 2. – М.: Физматлит, 2007. – 368 с.
7. Особенности нарушения микроциркуляции при различных типах старения кожи / Потехаев Н.Н., Ткаченко С.Б., Шугинина Е.А., Имаева Н.А. // 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-ра физ.-матем. наук. – Томск, 2004. – 42 с.
9. 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.