

ИЗМЕНЕНИЕ ОБЪЕКТИВНЫХ ПАРАМЕТРОВ АУТОФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ КАРТИНЫ КОЖИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНСОЛЯЦИИ И ВОЗРАСТА

Е.В. Крылова, А.В. Крылов, Н.Н. Петрищев, Г.В. Папаян

Центр лазерной медицины СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Существует несколько ключевых факторов, в том числе возраст и инсоляция, воздействие которых приводит к изменению свойств кожи, регистрируемых с помощью метода аутофлуоресцентной дерматоскопии. В данной работе использовался принцип мультиспектральной регистрации изображений кожи в свете аутофлуоресценции при возбуждении длиной волны вблизи 400 нм. Установлено, что и на инсолируемых, и на малоинсолируемых зонах с возрастом достоверно увеличивались общий фон флуоресценции кожи, коэффициент гетерогенности и интегральный показатель аутофлуоресценции. Наиболее выраженное увеличение этих показателей отмечено в группе женщин старше 45 лет. Можно предполагать, что это связано с изменением свойств коллагена и накоплением конечных продуктов гликирования, а также неравномерным распределением адсорбирующих хромофоров кожи. Инсоляция ускоряет развитие возрастных изменений аутофлуоресценции кожи. Различия аутофлуоресценции кожи на инсолированных и неинсолированных участках, сохраняются во всех возрастных группах. Описанные возрастные особенности аутофлуоресценции надо учитывать при проведении диагностических и лечебных мероприятий.

Ключевые слова: аутофлуоресцентная дерматоскопия, возрастные изменения, фотостарение.

Для цитирования: Крылова Е.В., Крылов А. В., Петрищев Н.Н., Папаян Г.В. Изменение объективных параметров аутофлуоресцентной картины кожи под влиянием инсоляции и возраста // *Biomedical Photonics*. – 2015. – Т. 4, № 4. – С. 3–10.

Контакты: Крылова Е.В., e-mail: dr.kryl@mail.ru

AUTOFLUORESCENT PARAMETERS OF THE SKIN CHANGES IN ACCORDANCE OF AGE AND INSOLATION

Krylova E.V., Krylov A.V., Petrishchev N.N., Papayan G.V.

First St-Petersburg I. P. Pavlov State Medical University, St-Petersburg, Russia

Abstract

There are several key factors, such as age and sun exposure, the effects of which leads to a change in the properties of the skin, detected by the method of autofluorescent dermatoscopy. In this paper we used the principle of multispectral imaging of the skin in the light of autofluorescence at excitation wavelength of about 400 nm. It was found that, the background skin glow, the coefficient of heterogeneity and the integral index of autofluorescence significantly increases in a low insolated areas. The most pronounced increase of these parameters observed in the group of women older than 45 years. We can assume that this is due to changes in the properties of collagen and accumulation of advanced glycation end products, and the uneven distribution of absorbent skin chromophores. Insolation accelerates the development of age-related changes of skin AF. According to the literature, in people aged 50–70 years increased NADH (external NADH oxidase) and AGEs compared with age 20–40 years. The differences in the autofluorescence of the skin between high and low insolated sites saved in all age groups. Autofluorescence age-related features described above should be considered for diagnostic and therapeutic measures.

Keywords: autofluorescent dermatoscopy, age-related changes, photoaging.

For citations: Krylova E.V., Krylov A.V., Petrishchev N.N., Papayan G.V. Autofluorescent parameters of the skin changes in accordance of age and insolation, *Biomedical Photonics*, 2015, T. 4, No. 4, pp. 3–10 (in Russian).

Contacts: Krylova S.V., e-mail: dr.kryl@mail.ru

Введение

Активное развитие дерматологии и косметологии в последние годы во многом предопределило интерес к проблеме фото- и хроностарения кожи. Эффективность коррекции инволюционных изменений традиционно подтверждалась гистологическими исследованиями. Однако обращающиеся к косметологам

здоровые люди неохотно идут на такие травмирующие процедуры, как биопсия кожи. При этом определение вклада фотостарения в процессе возрастных изменений кожи имеет не только научный, но и практический интерес. Фотостарение является следствием длительного воздействия УФ-излучения и рассматри-

вается как процесс, дополняющий хроностарение [1–3]. Интересным представляется использование метода флуоресцентной дерматоскопии для неинвазивного оперативного контроля изменений кожи *in vivo*. Аутофлуоресцентная дерматоскопия – метод исследования, основанный на оценке картины флуоресценции ткани, получаемой при освещении кожи и возбуждении различных эндогенных фотоактивных веществ. Флуоресценция обусловлена наличием эндогенных флуорофоров (коллагена, конечных продуктов гликирования коллагена и эластина, пиридиннуклеотидов, флавопротеинов и порфиринов). По данным литературы у людей в возрасте 50–70 лет увеличивается NADH (external NADH oxidase) и AGEs по сравнению с возрастом 20–40 лет [4].

Классическим примером оценки флуоресценции кожи в дерматологической диагностике является использование лампы с фильтром Вуда [5], представ-

ляющей источник УФ света с длиной волны около 360 нм. В настоящее время разработан ряд специальных аппаратов для проведения флуоресцентных исследований кожи, в которых применяют различные длины волн возбуждения и принципы регистрации.

Материал и методы

В данной работе использовался принцип мультиспектральной регистрации изображений кожи в свете аутофлуоресценции при возбуждении длиной волны вблизи 400 нм, реализованный с помощью флуоресцентного видеодерматоскопа «EcoSkin». Использованное оборудование позволяет получать цветные флуоресцентные изображения кожи с высоким пространственным разрешением и контрастом. Пример получаемых с его помощью аутофлуоресцентных изображений кожи разного возраста показан на рис. 1.

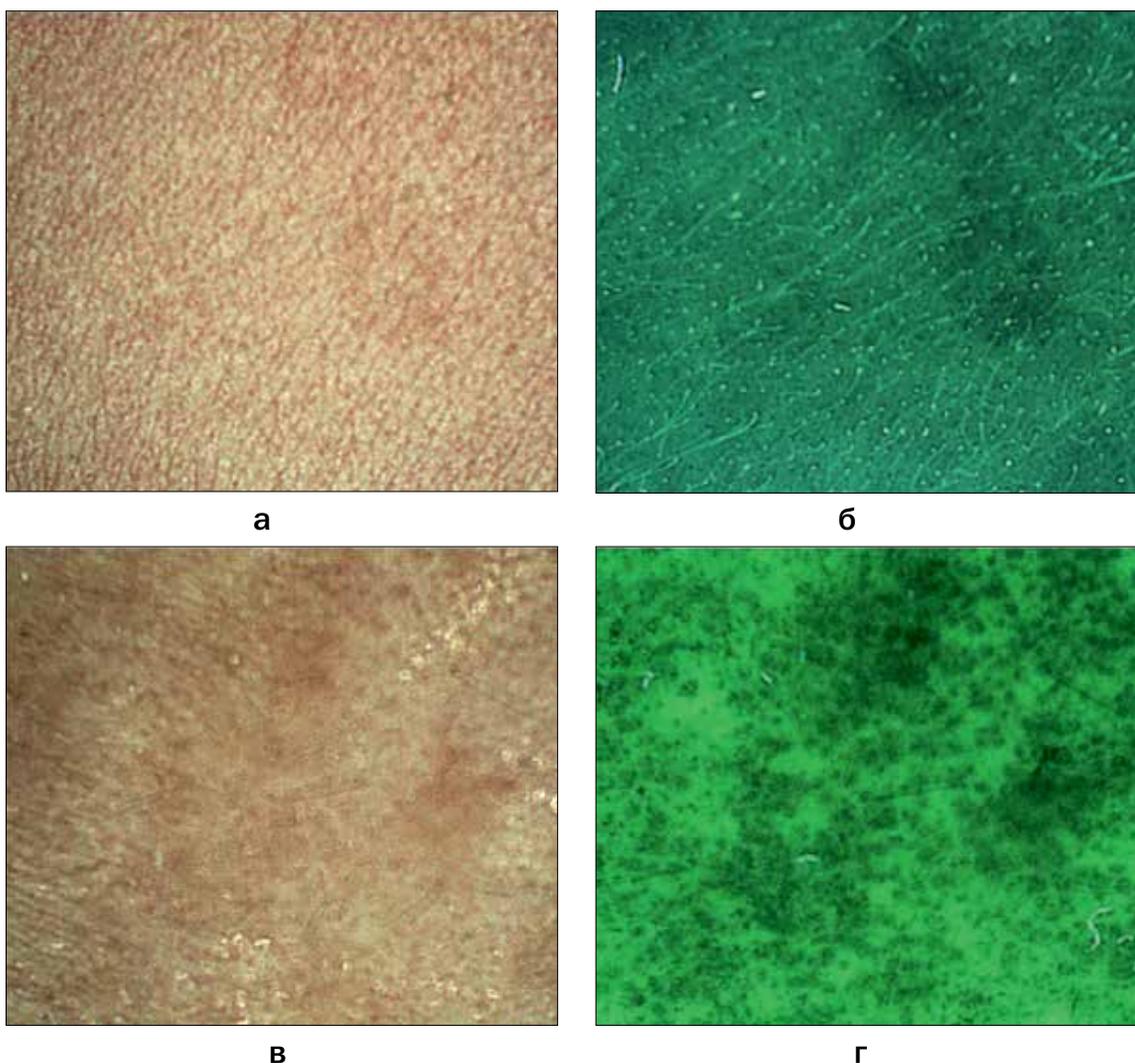


Рис. 1. Фотографии кожи:
а – девушки (13 лет) в белом свете, б – девушки (13 лет) в свете флуоресценции
в – женщины (93 года) в белом свете, г – женщины (93 года) в свете флуоресценции

Представленные фотографии демонстрируют основные изменения картины аутофлуоресценции с возрастом: усиление яркости флуоресценции и увеличение пространственной неоднородности изображения. Эти наблюдения послужили основой для разработки метода оценки биологического возраста кожи. Наиболее устойчивыми параметрами, количественно описывающими степень увядания кожи, являются стандартизированный по образцу сравнения сигнал в зеленом канале g и коэффициент гетерогенности H , характеризующий степень неравномерности пигментации в эпидермисе. На основании указанных параметров методом множественной линейной регрессии сформированы интегральные показатели, которые обобщают возрастные зависимости каждого из признаков с учетом их весомости.

Задачей данной работы являлось определение на основе большого статистического материала объективных параметров аутофлуоресценции кожи, которые наиболее достоверно связывают наблюдаемую картину с протекающими в ней физиологическими и патологическими процессами, обусловленными возрастными изменениями и изменениями вследствие инсоляции.

В исследуемую группу вошли 106 женщин в возрасте от 18 до 93 лет. Из них 59 женщин имели второй фототип кожи по Фицпатрику, 47 – третий фототип. Оценивались участки кожи наиболее подверженные инсоляции (участок щеки) и наименее подверженные инсоляции (участок кожи на внутренней поверхности плеча). В исследование не включали пациенток с 1 и 4 фототипом кожи по Фицпатрику, с наличием свежего загара, беременных, кормящих женщин, больных диабетом. Для анализа были выбраны участки кожи без новообразований, травм (гематом, эксфолиаций), рубцовых изменений, татуировок и перманентного макияжа. В работе был использован флуоресцентный видеодерматоскоп «EcoSkin», разработанный в процессе российско-корейского научно-технического сотрудничества в «SOI-KOREA Center. KERI». Возбуждение флуоресценции производилось фиолетовыми лучами вблизи 400 нм с помощью светодиодов, а регистрация флуоресцентной картины осуществлялась с помощью телевизионного RGB детектора. Программа «Skin-Matrix» позволила получать цифровые значения – общего фона флуоресценции (G), соотношение интенсивности флуоресценции по цветовым каналам: красному (r) и зеленому (g), зеленому (g) и синему (b). Измерения коэффициента гетерогенности флуоресценции (H) осуществлялись при помощи специализированной программы Flt.exe, а обработка результатов измерений производилась в программе Microsoft Excel. Соответствующие спектральные кривые соответствуют полосам излучения флуорофоров кожи: в зону

кривой r попадают порфирины, в зону g – флавины, липопигменты и конечные продукты гликирования (advanced glycation end-products – AGEs), в зону b – пиридиннуклеотиды, а так же видимая часть излучения коллагена и эластина.

Для количественной оценки состояния кожи использовали интегральный показатель возрастных изменений аутофлуоресценции кожи A , учитывающий изменения следующих параметров: величины сигналов r , g и b по отношению к выбранному стандарту флуоресценции и отношения r/g и b/g ($A=f(H,G,r/g,b/g)$). Полученные данные подвергали статистической обработке при помощи программ MS Excel 2003 и STATISTICA 8.0. Анализ экспериментальных данных показал отсутствие значимых отличий их распределений от нормального закона (критерий Колмогорова–Смирнова), поэтому результаты представлены средним арифметическим значением (M) и его стандартной ошибкой (m) в виде $M \pm m$. При статистическом сравнении 3 и более групп проводился параметрический дисперсионный анализ по Фишеру (ANOVA), при парных сравнениях применялся двухвыборочный критерий Стьюдента. При оценке корреляционных взаимосвязей вычислялся параметрический коэффициент корреляции Пирсона (r). Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимался равным 0,05.

Результаты

Аутофлуоресценция кожи, не подверженной регулярной инсоляции

В качестве наименее подверженной инсоляции зоны нами был выбран участок кожи на внутренней поверхности плеча. В исследованном участке отсутствовали новообразования, пигментные пятна, элементы кожной сыпи, нарушения целостности кожи и декоративная косметика, в том числе средства автозагара, которые могут давать специфичную флуоресценцию или адсорбировать сигнал.

Как видно из гистограммы (рис. 2), с возрастом на малоинсолируемых участках кожи увеличивался общий фон флуоресценции. В группе женщин от 18 до 35 лет этот показатель составлял 389 ± 16 у.е., а в группе старше 45 лет увеличился до 601 ± 44 у.е. На участках кожи, наименее подверженных инсоляции, установлена значимая прямая корреляционная связь между общим фоном флуоресценции и возрастом ($r = 0,64$, $p < 0,001$).

Коэффициент гетерогенности (H) с возрастом увеличивается в пределах от $1,370 \pm 0,033$ в группе от 18 до 35 лет до $1,880 \pm 0,070$ в группе старше 45 лет (рис. 3).

Исходя из полученных данных, гетерогенность на участках кожи, наименее подверженных инсоля-

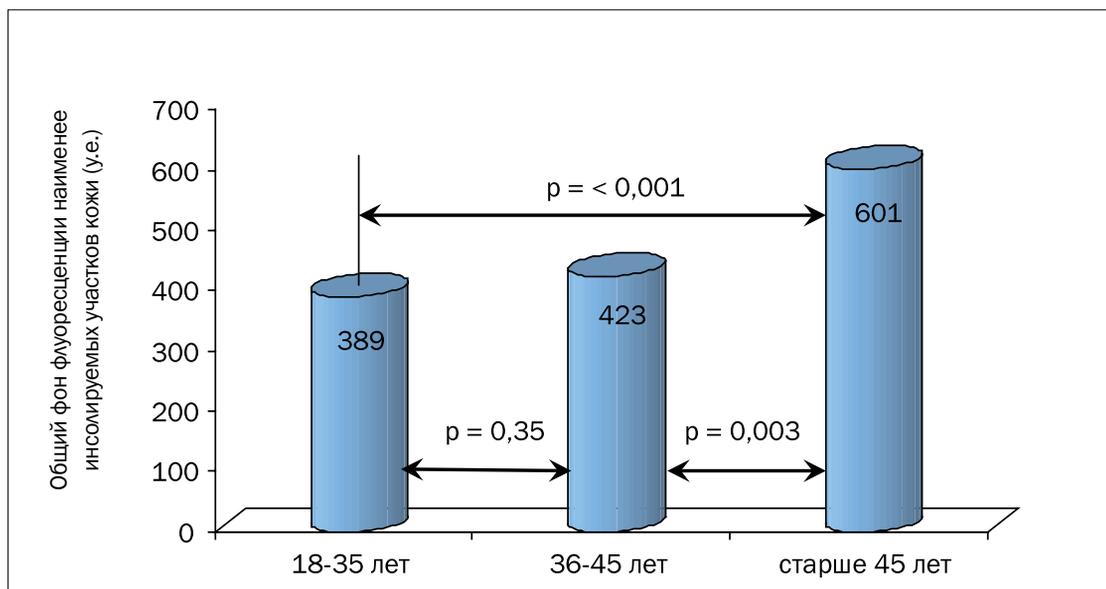


Рис. 2. Общий фон флуоресценции наименее инсолируемых участков кожи у пациентов разных возрастных групп

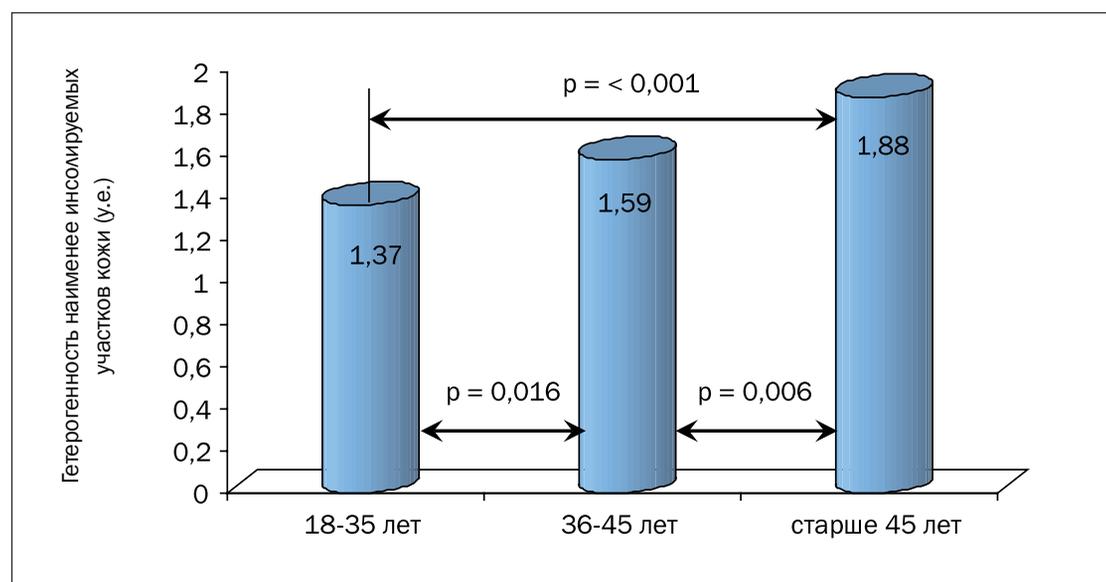


Рис. 3. Коэффициент гетерогенности аутофлуоресценции наименее инсолируемых участков кожи у пациентов разных возрастных групп

ции, значимо коррелировала с возрастом ($r = 0,59$, $p < 0,001$).

Интегральный показатель возрастных изменений аутофлуоресценции кожи (A), учитывающий изменения величины сигналов r, g и b по отношению к выбранному стандарту флуоресценции и отношения r/g и b/g ($A = f(H, G, r/g, b/g)$), соответственно показателям G и H, также увеличивается, как видно из табл. 1 и рис. 4. В первой группе женщин (от 18 до 35 лет) интегральный показатель возрастных изменений аутофлуоресценции кожи составил $0,100 \pm 0,003$ и увеличился до $0,150 \pm 0,007$ в группе женщин старше 45 лет.

Между интегральным показателем аутофлуоресценции кожи (A) и возрастом пациенток, имелась значимая корреляция - $r = 0,75$, $p < 0,001$.

Обобщенные данные представлены в табл. 1.

Аутофлуоресценция кожи, подверженной регулярной инсоляции

Тестируемым был выбран участок кожи лица из-за постоянного воздействия ультрафиолетового облучения. На данном участке у всех обследуемых прослеживались те же тенденции в изменениях, что и на малоинсолируемой области. С возрастом пока-

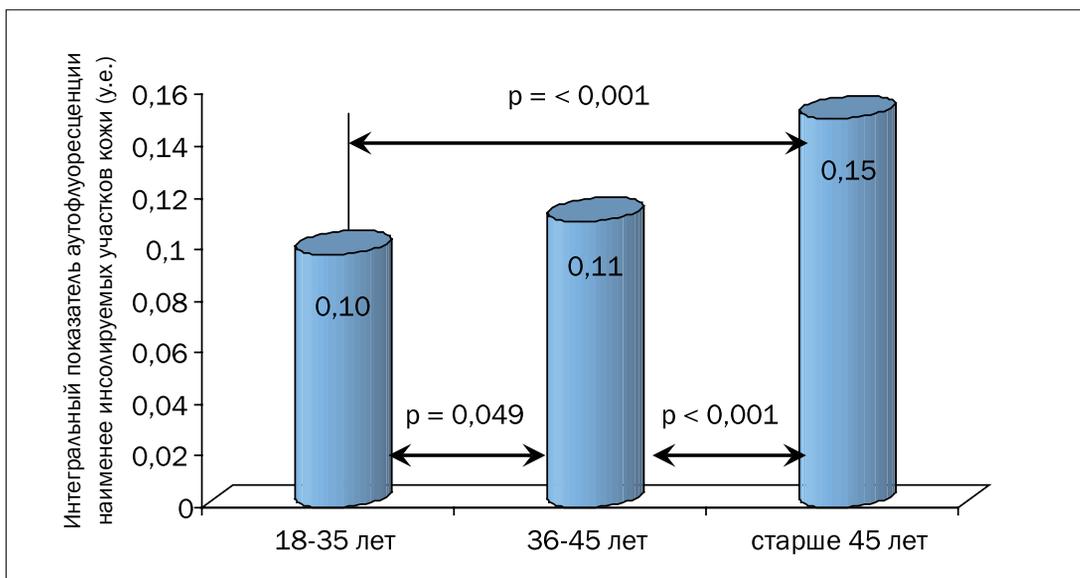


Рис. 4. Интегральный показатель возрастных изменений аутофлуоресценции (А) наименее инсолируемых участков кожи у пациентов разных возрастных групп

Таблица 1.

Показатели аутофлуоресценции наименее инсолируемых участков кожи

Группа	Показатели аутофлуоресценции		
	Н (коэффициент гетерогенности)	G (показатель общего фона флуоресценции)	A (интегральный показатель)
1 (18-35 лет) N=61	1,370±0,035	389±17	0,100±0,003
2 (36-45 лет) N=18	1,590±0,077	423±36	0,110±0,005
3 (старше 45 лет) N=27	1,880±0,071	601±44	0,150±0,007
Результаты ANOVA	$F_{\text{Фишера}} = 28,1;$ $p < 0,001$	$F_{\text{Фишера}} = 16,7;$ $p < 0,001$	$F_{\text{Фишера}} = 31,1;$ $p < 0,001$
p (1-2)	0,0044	0,35	0,049
p (2-3)	0,0066	0,0030	< 0,001
p (1-3)	< 0,001	< 0,001	< 0,001

затель общего фона флуоресценции (G) увеличивается от 302 ± 17 до 509 ± 43 (рис. 5).

Коэффициент корреляции общего фона флуоресценции на участках кожи, наиболее подверженных инсоляции, составил 0,60 ($p < 0,001$). Показатель гетерогенности (Н) также достоверно возрастал при увеличении возраста: от $1,990 \pm 0,079$ до $3,220 \pm 1,200$ (рис. 6).

Приведенные данные демонстрируют корреляционную взаимосвязь при $r=0,64$ ($p < 0,001$).

Интегральный показатель возрастных изменений аутофлуоресценции кожи (А) соответственно вырос от $0,300 \pm 0,009$ до $0,520 \pm 0,028$ (табл. 2, рис. 7).

Более значительные изменения прослеживаются в третьей группе (старше 45 лет). В этой

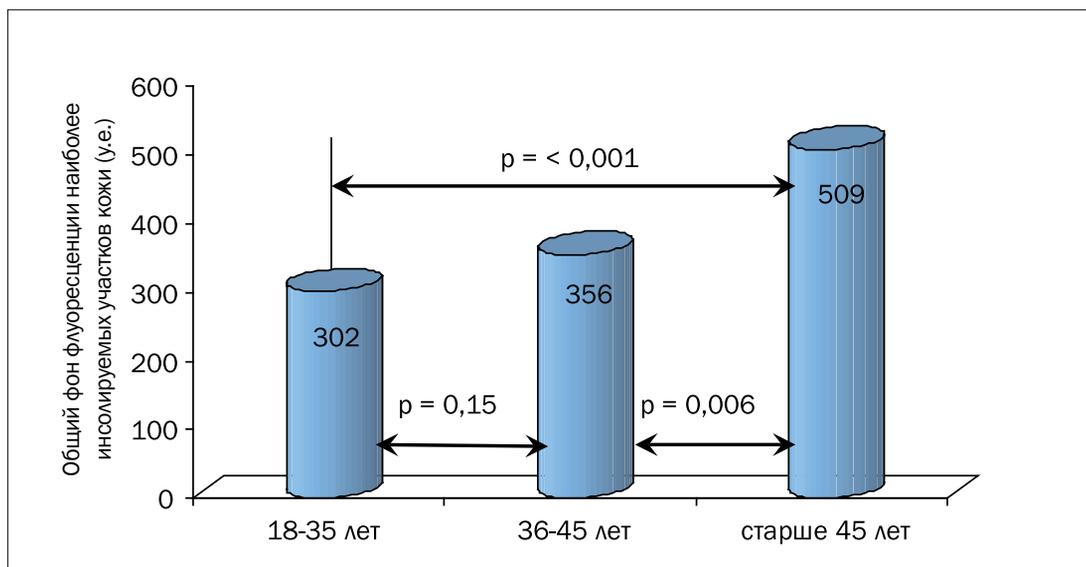


Рис. 5. Общий фон флуоресценции наиболее инсолируемых участков кожи у пациентов разных возрастных групп

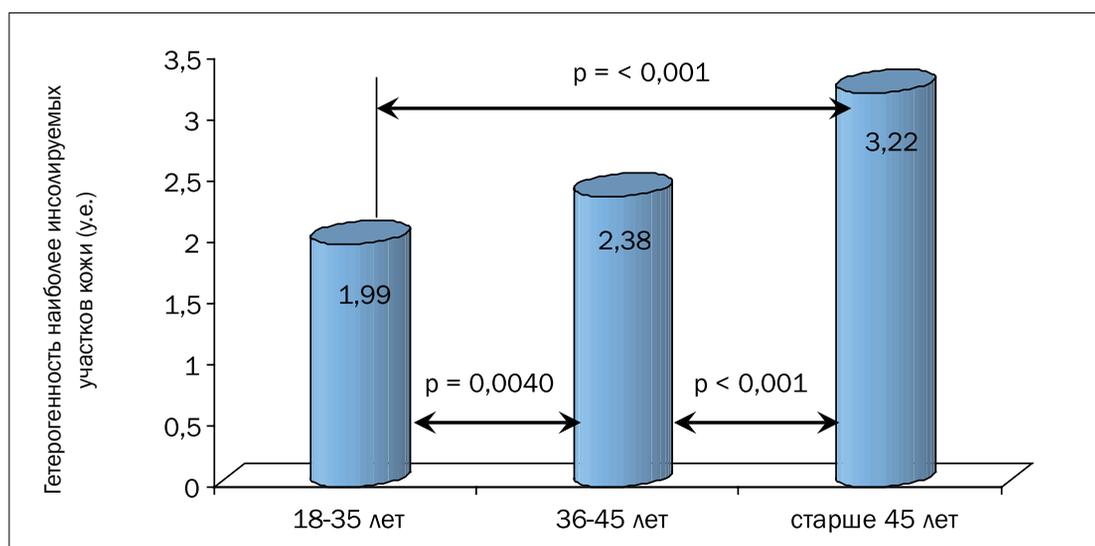


Рис. 6. Коэффициент гетерогенности аутофлуоресценции наиболее инсолируемых участков кожи у пациентов разных возрастных групп

группе показатель G возрастает примерно в 1,5 раза ($509/356=1,43$) по отношению к предыдущей группе. Показатели H ($3,22/2,38=1,35$) и A ($0,52/0,37=1,4$) также увеличиваются почти в 1,5 раза.

Прослеживается корреляционная взаимосвязь интегрального коэффициента аутофлуоресценции на участках кожи, подверженных инсоляции, с возрастом ($r=0,79$, $p<0,001$).

Обобщенные данные представлены в табл. 2.

Обсуждение и выводы

При длине волны возбуждения около 400 нм, в канале g регистрируются излучения следующих флуорофоров кожи: флавины, липопигменты, AGEs (advanced glycation end-products), также в этот канал попадает 36% флуоресценции коллагена, 43% эластина и 40% NADH (external NADH oxidase). Наибольший вклад в общую картину флуоресценции кожи вносят коллаген, AGEs и NADH.

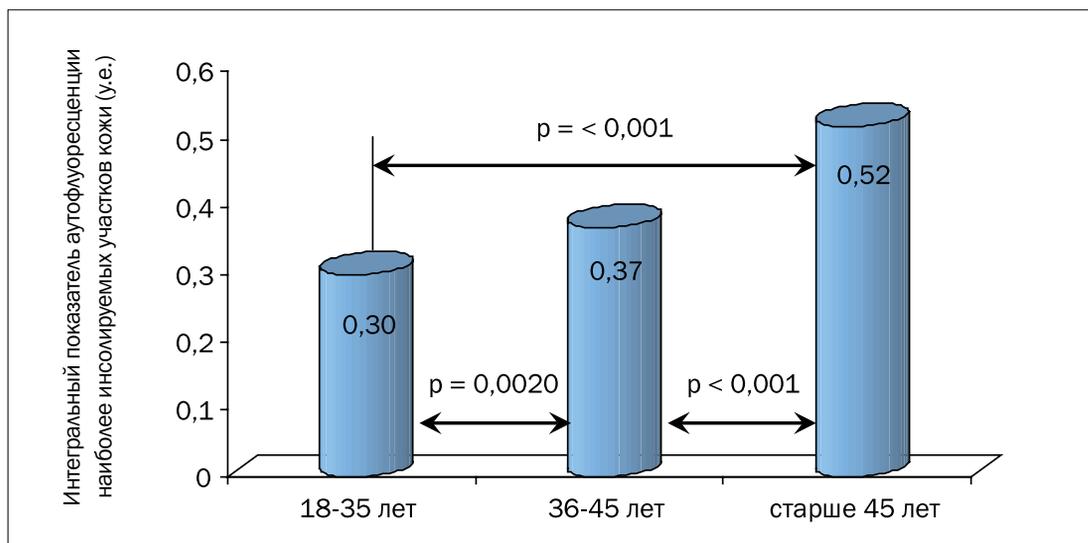


Рис. 7. Интегральный показатель аутофлуоресценции (А) наиболее инсолируемых участков кожи у пациентов разных возрастных групп

Таблица 2.

Показатели аутофлуоресценции наиболее инсолируемых участков кожи

Группа	Показатели аутофлуоресценции		
	Н (коэффициент гетерогенности)	G (показатель общего фона флуоресценции)	A (интегральный показатель)
1 (18-35 лет) N=61	1,990±0,079	302±17	0,300±0,009
2 (36-45 лет) N=18	2,38±0,10	356±33	0,370±0,016
3 (старше 45 лет) N=27	3,22±0,20	509±43	0,520±0,028
Результаты ANOVA	$F_{\text{Фишера}} = 29,0;$ $p < 0,001$	$F_{\text{Фишера}} = 16,7;$ $p < 0,001$	$F_{\text{Фишера}} = 46,2;$ $p < 0,001$
p (1-2)	0,0040	0,15	0,0020
p (2-3)	< 0,001	0,0069	< 0,001
p (1-3)	< 0,001	< 0,001	< 0,001

По данным литературы у людей в возрасте 50–70 лет увеличивается содержание NADH и конечных продуктов гликации AGEs по сравнению с возрастом 20–40 лет [5]. Этим можно объяснить усиление с возрастом аутофлуоресценции кожи.

По мере старения, как известно распределение меланина в коже становится более неравномерным,

а также уменьшается плотность капилляров. Меланин и оксигемоглобин крови являются поглощающими хромофорами, уменьшают соответственно сигнал аутофлуоресценции, что проявляется в увеличении гетерогенности наблюдаемой картины с возрастом.

В механизме фотостарения основное значение придается ультрафиолетовым лучам, которые прони-

кают в эпидермис и в самые верхние слои дермы. Эти лучи обладают сильным повреждающим действием и отвечают за многие острые и хронические побочные эффекты, связанные с воздействием солнечного света [6]. Инсоляция ускоряет развитие возрастных изменений аутофлуоресценции кожи. Различия аутофлуоресценции кожи на инсолированных и неинсолированных участках, сохраняются во всех возрастных группах.

Установлено, что и на инсолируемых, и на малоинсолируемых зонах с возрастом достоверно увеличивались общий фон флуоресценции кожи, коэффициент гетерогенности и интегральный показатель аутофлуоресценции, наиболее выраженное увеличение этих показателей отмечается в группе женщин старше 45 лет. Можно предполагать, что это связано с изменением свойств коллагена и накоплением конечных продуктов гликирования, а

также неравномерным распределением адсорбирующих хромофоров кожи.

Основным эндогенным флуорофором, флуоресцирующим в красной области спектра, является протопорфирин IX. Красная флуоресценция характерна для базально-клеточного рака кожи, псориазических бляшек, а также может появляться в результате жизнедеятельности анаэробной микрофлоры и пропионобактерий акне. Любые новообразования кожи, себорейные зоны и участки кожи с высыпными элементами, для которых характерна флуоресценция в области канала r , были заведомо исключены из нашего исследования. Статистически значимых изменений аутофлуоресценции по красному каналу (r), также как и по каналу (b) не наблюдалось во всех возрастных группах.

Описанные возрастные особенности аутофлуоресценции надо учитывать при проведении диагностических и лечебных мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kligman A.M. Early destructive effect of sunlight on human skin // *JAMA*. – 1969. – Vol. 210 (13). – P. 2377–2380.
2. Kligman L.H. Photoaging. Manifestation, prevention and treatment // *Clin Geriatr Med*. – 1989. – Vol. 5(1). – P. 235–251.
3. Потеекаев Н.Н., Гуткин Д.В. Новые подходы в коррекции возрастных изменений кожи // *Клиническая дерматология и венерология*. – 2006. – № 3. – С. 43–48.
4. Balu M., Mazhar A., Hayakawa C.K. et al. In vivo multiphoton NADH fluorescence reveals depth-dependent keratinocyte metabolism in human skin // *Biophys J*. – 2013 Vol. 104(1). – P. 258–267.
5. Wood R.W. Secret communications concerning light rays // *J Physiol*. – 1919. – Т. IX.
6. Хлебникова А.Н. Дерматологические аспекты действия инсоляции // *Дерматология*. – 2009. – № 2. – С. 38–42.

REFERENCES

1. Kligman A.M. Early destructive effect of sunlight on human skin, *JAMA*, 1969, Vol. 210 (13), pp. 2377–2380.
2. Kligman L.H. Photoaging. Manifestation, prevention and treatment, *Clin Geriatr Med*, 1989, Vol. 5 (1), pp. 235–251.
3. Potekaev N.N., Gutkin D.V. Novye podkhody v korrektsii vozrastnykh izmenenii kozhi (New approaches to management of age-related changes of skin), *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*, 2006, No. 3, pp. 43–48.
4. Balu M., Mazhar A., Hayakawa C.K. et al. In vivo multiphoton NADH fluorescence reveals depth-dependent keratinocyte metabolism in human skin, *Biophys J*, 2013, Vol. 104 (1), pp. 258–267.
5. Wood R.W. Secret communications concerning light rays, *J Physiol*, 1919, T. IX.
6. Khlebnikova A.N. Dermatologicheskie aspekty deistviya insolyatsii (Dermatological aspects of influence of solar radiation), *Dermatologiya*, 2009, No. 2, pp. 38–42.