*На правах рукописи*

Холупова Людмила Сергеевна

# СОЧЕТАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ГАЗОЖИДКОСТНОГО ПИЛИНГА И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОК С ФОТО- И ХРОНОСТАРЕНИЕМ

3.1.33. Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки)
3.1.23. Дерматовенерология (медицинские науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации

**Научные руководители:**
доктор медицинских наук, профессор Круглова Лариса Сергеевна
кандидат медицинских наук, доцент Суркичин Сергей Иванович

**Оппоненты:**
Донцова Елена Владимировна – доктор медицинских наук, доцент, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии

Теплюк Наталия Павловна – доктор медицинских наук, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), профессор кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского

**Ведущая организация:**
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2023 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 01.3.001.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации по адресу: 121359, Москва, улица Маршала Тимошенко, дом 19, стр. 1А. 2 этаж, аудитория 239.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ ДПО «ЦГМА» по адресу: 121359, Москва, Маршала Тимошенко ул., 19, стр. 1А и на сайте http://cgma.su/science/dissertatsionnye-sovety/teksty_dissertatsiy.php

Автореферат разослан «_____» _____2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент Савина Надежда Михайловна

# ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

## Актуальность темы исследования

Лечение клинических проявлений фото- и хроностарения кожи является одной из важных медико-социальных проблем. Старение относится к многофакторным биологическим процессам, сопровождающимся метаболическими и структурно-функциональными изменениями организма, которые охватывают все органы и ткани.

В настоящее время в связи с наблюдаемой тенденцией к повышению социальной активности людей старшего возраста вопросы эстетической коррекции возрастных изменений приобретают все большую актуальность. Для терапии возрастных изменений широко применяются инъекционные методы, аппаратная физиотерапия, хирургический лифтинг, косметический уход и т. п., однако имеющиеся методы лечения не всегда являются достаточно удовлетворительными по клиническому эффекту и продолжительности достигнутых результатов, могут вызывать осложнения и обусловливать развитие дисморфофобии у пациентов (Боровиков А.М. 2011; Böhling, A., 2014).

Широкий выбор методов терапии инволютивных изменений на современном этапе развития эстетической медицины позволяет подбирать индивидуальные программы с учетом морфотипа старения, преобладающей клинической картины влияния экспозом факторов (фотоповреждение). Особое место в лечении инволютивных признаков занимает метод фотодинамической терапии (ФДТ). Топическая ФДТ способна оказывать существенное влияние на иволютивные изменения и последствия фотоповреждения кожи. По данным литературных источников, фотодинамическая терапия обусловливает ремоделирование коллагена за счет стимуляции неоколлагенеза, способствует усилению эпидермальной пролиферации, увеличивая выработку цитокинов (Gold M.H., 2002; Clementoni M.T., B-Roscher M., Munavalli G.S., 2010). По данным ряда авторов под воздействием ФДТ улучшается текстура кожи, повышается ее упругость, снижается количество мелких морщин, а более глубокие становятся менее выраженными (Touma D., Yaar M., Whitehead S., Konnikov N., Gilchrest B.A., 2004, Zane C., Capezzera R., Sala R., Venturini M., Calzavara-Pinton P., 2007). Метод является неинвазивным и хорошо переносится пациентами, что определяет возможность его широкого применения в клинической практике.

Эффективность фотодинамической терапии может быть повышена за счет дополнительного предварительного применения газожидкостного пилинга для повышения доступности фотосенсибилизатора и возможной суммации биологических эффектов двух физиотерапевтических факторов. Вопрос их взаимоусиливающего действия и показания к дифференцированному применению остаются не до конца изученными, что делает перспективными дальнейшие исследования в этом направлении.

**Степень разработанности темы исследования**

Сегодня фотодинамическая терапия используется в практической дерматологии и косметологии в зарубежной практике. В ряде исследований показано положительное влияние фотодинамической терапии с метиловым эфиром аминолевулиновой кислоты (МАЛ-ФДТ) на продукцию коллагена (Marmur E.S. et al., 2005; Zane C., et al., 2007). Иммуногистохимические исследования показали, что ФДТ обусловливает ремоделирование коллагена, способствует усилению эпидермальной пролиферации, увеличивая выработку цитокинов, способствует стимуляции неоколлагенеза (Gold M.H., 2002; Clementoni M.T., et al., 2010). При воздействии ФДТ улучшается текстура кожи, повышается ее упругость, снижается количество мелких морщин, а более глубокие становятся менее выраженными (Touma D. et al., 2004; Zane C. et al., 2007).

В настоящее время в качестве фотосенсибилизатора для коррекции признаков фото- и хроностарения кожи широко используются производные хлорина Е6. Роговой слой кожи является основным препятствием для абсорбции фотосенсибилизатора (Peng Q. et al., 2001). Данный факт стал предпосылкой для разработки комбинированного протокола проведения фотодинамической терапии с предварительным воздействием на роговой слой газожидкостным пилингом, направленным на улучшение проникновения фотосенсибилизатора.

**Цель исследования**

Научно обосновать и разработать метод лечения пациенток с клиническими признаками фото- и хроностарения с сочетанным использованием газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии с хлорином Е6 с учетом данных иммуногистохимического исследования.

## Задачи исследования

1. Изучить влияние фотодинамической терапии с применением хлорина Е6, в том числе при сочетанном использовании с газожидкостным пилингом, на коллагеновые волокна кожи с использованием иммуногистохимического метода исследования у пациенток с клиническими признаками фото- и хроностарения
2. Исследовать влияние фотодинамической терапии с применением хлорина Е6, в том числе при сочетанном использовании с газожидкостным пилингом, на качественные характеристики кожи и трансэпидермальную потерю воды/увлажненность по данным корнеометрии и тэваметрии.
3. В сравнительном аспекте оценить морфоструктурные изменения в коже после моно-фотодинамической терапии и при сочетании с газожидкостным пилингом у пациенток с клиническими признаками фото- и хроностарения по данным ближайших и отдаленных наблюдений.
4. Оценить эффективность сочетанного применения газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии у пациенток с клиническими признаками фото- и хроностарения на основании изучения качественных характеристик кожи с учетом оценочных визуальных аналаговых шкал.
5. В сравнительном аспекте определить динамику показателей качества жизни пациенток с клиническими признаками фото- и хроностарения после сочетанной терапии с применением газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии, и моно-фотодинамической терапии.

## Научная новизна

Впервые результатами диссертационного исследования научно обоснована целесообразность применения перед фотодинамической терапией газожидкостного пилинга для изменения морфоструктурных характеристик кожи и более эффективного проникновения фотосенсибилизатора. Впервые на основании иммуногистохимического исследования было доказано влияние газожидкостного пилинга на скорость проникновения фотосенсибилизатора в кожу. По результатам исследования впервые был разработан протокол сочетанного применения газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии для применения в клинической практике.

В работе впервые проведено исследование эффективности и безопасности сочетанного использования газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии

с хлорином Е6 фотосенсибилизатором у пациенток с признаками фото- и хроностарения. Показано, что сочетанный метод имеет преимущество перед моно фотодинамической терапией в отношении восстановления морфофункциональных характеристик кожи (уровень увлажненности кожи, показатель трансэпидермальной потери воды). При сочетанном протоколе проведения процедуры газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии полученные результаты были достоверно лучше ($p<0,05$) в ближайшие сроки, при этом через 3 месяца после лечения показатели корнеометрии были сопоставимыми, а показатель трансэпидермальной потери воды достоверно ниже ($p<0,05$).

Впервые было доказано, что после сочетанного метода наблюдается ремоделирование коллагена: повышение количества коллагена 1 типа и уменьшение количества коллагена 3 типа. При проведении газожидкостного пилинга перед процедурой ФДТ уменьшение толщины эпидермиса, достоверно более выраженное сразу после лечения ($p<0,05$), а через 3 месяца не отличается от результата, полученного при проведении моно ФДТ. При этом максимальное увеличение толщины дермы наблюдается через 3 месяца после процедур, а при проведении газожидкостного пилинга перед ФДТ показатель достоверно выше ($p<0,05$).

Сравнительный анализ данных оценочных шкал показал, что по показателям шкалы ВАШ ксероз, цвет и тон кожи, выраженность пигментации результаты, полученные при лечении сочетанным методом газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии достоверно лучше ($p<0,05$), чем при лечении только ФДТ.

Доказано, что применение газожидкостного пилинга повышает эффективность фотодинамической терапии в сочетанном протоколе и повышает приверженность пациентов к лечению и их качество жизни.

**Теоретическая и практическая значимость работы**

Анализ полученных результатов динамики морфофункциональных показателей кожи позволил доказать эффективность как метода моно фотодинамической терапии с хлорином Е6, так и в сочетании с газожидкостных пилингом в отношении улучшения коллагенообразования (повышение синтеза коллагена 1, снижение продукции коллагена 3), нормализации показателей морфоструктуры и качественных характеристик кожи. Дополнение фотодинамической терапии газожидкостным пилингом позволяет улучшать

результаты терапии и повышает приверженность пациентов лечению, качество их жизни. В литературе представлены данные о влиянии фотодинамической терапии с использованием 5-аминолевулиновой кислоты и метилового эфира аминолевулиновой кислоты в качестве фотосенсибилизатора на ремоделирование коллагена кожи. Результатами работы продемонстрированы аналогичные результаты при использовании фотосенсибилизатора на основе хлорина Е6.

Проведено клинически эффективное усовершенствование метода коррекции инволютивных изменений кожи лица на основе дополнения фотодинамической терапии газожидкостным пилингом, что позволило достоверно улучшить результаты терапии пациентов с клиническими признаками фото- и хроностарения.

Практическая значимость заключается в разработке протокола сочетанного проведения газожидкостного пилинга и ФДТ на основании данных гистологического исследования по проникновению фотосенсибилизатора в кожу. Сочетанный метод лечения повышает комплаетность и качество жизни пациентов. Результатами диссертационного исследования практическому здравоохранению предложен новый высокоэффективный и безопасный метод терапии основных симптомов фото и хроностарения, который позволяет добиться значимых клинических результатов. Разработанный метод является малоинвазивным, достаточно простым в исполнении, что позволяет рекомендовать его для широкого применения в различных лечебно-профилактических учреждениях дерматологического, косметологического и физиотерапевтического профиля.

## Методология и методы исследования

Исследование проводилось в рамках совместной научно-исследовательской работы кафедры физической и реабилитационной медицины с курсом клинической психологии и педагогики и кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБУ ДПО «ЦГМА» на тему «Инновационные методы диагностики и коррекции инволютивных изменений кожи». В период с 2019 – 2021 год в исследовании приняли участие 129 пациентов с клиническими признаками фото- и хроностарения кожи. Для изучения эффективности разработанного метода терапии дизайном данного исследования было предусмотрено формирование групп сравнения. Анализу были подвергнуты 2 варианта терапии пациентов: моновоздействие методом фотодинамической терапии и сочетанный протокол с проведением газожидкостного пилинга перед фотодинамической терапией. 3 группа являлась

контрольной, и участники ее не получали терапии. Все участники соответствовали критериям включения, не включения и исключения в диссертационное исследование, подписали информированное согласие на проведение процедур и на участие в исследовании. В ходе исследования были использованы дерматологические индексы визуально-аналоговой шкалы, опросник ДИКЖ, а также специальные методы исследования: иммуногистохимический метод, определение функциональных параметров кожи (корнеометрия, измерение трансэпидермальной потери воды), морфологических параметров (ультразвуковое-сканирование кожи), что позволило объективизировать результаты исследования.

Протокол проведения научного исследования был одобрен локальным этическим комитетом при ФГБУ ДПО «ЦГМА» (выписка из протокола №6-Л/18 от 04 декабря 2018 года).

**Положения, выносимые на защиту**

1. Применение перед фотодинамической терапией газожидкостного пилинга способствует более эффективному проникновению фотосенсибилизатора хлорина Е6 в кожу.
2. Разработанный метод сочетанного применения газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии в большей степени улучшает функциональные показатели качественных характеристик кожи: увлажненность и транэпидермальную потерю воды, что приводит к восстановлению эпидермально-дермальной структуры кожи и ее качественных характеристик по данным динамики дерматологической визуально-аналоговой шкалы.
3. Сочетанное применение газожидкостного пилинга и фотодинамической терапией с использованием фотосенсибилизатора хлорина Е6 и моно-ФДТ с использованием фотосенсибилизатора хлорина Е6 кожи у пациентов с клиническими признаками фото- и хроностарения оказывают сопоставимое ремоделирующее воздействие на коллагеновые волокна дермы.
4. Сочетанный метод в большей степени, чем фотодинамическая терапия позволяет улучшить качество жизни пациенток с сочетанием клинических признаков фото- и хроностарения, и повышает их приверженность к лечению.

**Степень достоверности и апробация результатов**

Степень достоверности результатов исследования и его обоснованность обеспечивается применением современных методов исследования, соответствием дизайна исследования поставленным задачам, достаточным количеством пациентов (129 человека), применением корректных методик исследования и статистического анализа. Полученные результаты согласуются с результатами других авторов.

Полученные данные проведенных исследований используются в практической деятельности ООО «Клиника «Креде Эксперто» и в учебном процессе кафедры физической и реабилитационной медицины с курсом клинической психологии и педагогики и кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБУ ДПО «ЦГМА» для ординаторов, аспирантов, слушателей циклов повышения квалификации и профессиональной переподготовки.

Результаты диссертационной работы были представлены на междисциплинарной конференции «Интегративная дерматовенерология и косметология. Новые стандарты взаимодействия» (Москва, 2022), на VII научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в дерматологии и косметологии» (Москва, 2023).

Апробация диссертации проведена на совместном заседании кафедры физической и реабилитационной медицины с курсом клинической психологии и педагогики и кафедры дерматовенерологии и косметологии Федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации (протокол №2/1 от 27 февраля 2023 года).

**Личный вклад автора**

Автором сформулированы цель и задачи исследования. Самостоятельно проведен информационно-патентный поиск, осуществлен анализ литературы по теме исследования. Самостоятельно проведены клиническое обследование и лечение 129 пациенток с клиническим проявлениями фото- и хроностарения кожи. Автором изучены особенности проявлений физиологического старения в сочетании с фотостарением, проведен анализ морфологических и функциональных изменений, усовершенствован метод коррекции возрастных изменений и оценена его эффективность, систематизированы результаты исследований и выполнена их

статистическая обработка с последующей интерпретацией данных и обсуждением с привлечением литературных данных. Сформулированы выводы диссертационной работы и практические рекомендации, подготовлены материалы для публикации.

### Публикации

По теме диссертационной работы опубликованы 11 печатных работ в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Издано одно руководство и одно учебно-методическое пособие по теме диссертационной работы.

### Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 135 страницах текста, содержит введение, обзор литературы, главу результатов собственных исследований, заключение, выводы и практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 30 таблицами, 32 рисунками. Список литературы включает 178 источников (45 отечественных и 133 иностранных).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Клиническим материалом данного исследования послужили наблюдения за 129 пациентками в возрасте от 35 до 45 лет, обратившихся в отделение косметологии клиники «Креде Эксперто» с жалобами на клинические проявления фото- и хроностарения.

Критерии включения: клинические признаки фото- и хроностарения кожи; женский пол; возраст 35-45 лет; 2-3 фототип кожи по Фицпатрику; отсутствие косметологических вмешательств на лице за последние 2 года; отсутствие беременности, подтвержденное отрицательным анализом крови (бета-ХГЧ менее 5 МЕ/л) и отказ от планирования таковой; отсутствие противопоказаний для проведения фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизатора хлорина Е6; подписанное информированное согласие на включение в исследование; высокая готовность следовать предписаниям врача.

Критерии не включения: мужской пол; возраст младше 35 и старше 45 лет; косметологические вмешательства в области лица за последние 2 года; наличие противопоказаний для использования фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизатора хлорина Е6; заболевания кожи в активной фазе;

герпетические и другие инфекционные процессы кожи; общие инфекционные заболевания; хронические соматические заболевания в стадии обострения; психические заболевания; эпилепсия; склонность к образованию келоидных рубцов; онкологические заболевания; беременность и лактация; патология свертывающей системы крови, выраженная иммуносупрессия; заболевания соединительной ткани.

Критерии исключения из исследования: добровольное желание пациента досрочно завершить исследование; нарушение рекомендаций (проведение иных эстетических процедур, нарушение сроков процедур); появление нежелательных или побочных явлений, требующих прекращения.

На момент начала исследования в первую группу было включено 53 человека, однако 5 человек выбыли из исследования ввиду низкой приверженности к лечению (низкий комплаенс). Таким образом, первая группа наблюдения составила 48 человек. Во второй группе все 51 человек получили лечение в полном объеме. Контрольную третью группу составили 30 человек, которым не проводилось никакого лечения.

Предварительно была проведена оценка сопоставимости всех групп по показателям, влияющим на качество кожи и проявления инволютивных изменений, а именно: возраст, домашний уход за кожей, употребление алкоголя, курение.

Значимых различий между группами по возрасту ($p = 0,306$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса) не наблюдалось. Существенных различий групп по типу кожи пациентов также не выявлено, ($p = 0,993$), (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). При сравнении групп по количеству курящих пациентов также не выявлено значимых различий ($p=0,953$) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). Анализ групп по типу домашнего ухода пациентов не выявил статистически значимых различий ($p = 0,919$) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

Следовательно, пациенты всех групп были сопоставимы по возрасту, домашнему уходу за кожей и другим факторам.

**Дизайн исследования**

Исследование проводилось в два этапа – доклиническое и клиническое. На доклиническом этапе проводилась процедура забора биоптата кожи и выполнено исследование по проникновению фотосенсибилизатора хлорина Е6 (гель HELEO4 – Сферометаллохлорин™ 0,4%).

На этапе клинических исследований пациенты были разделены на 3 группы: 2 группы лечения и 1 контрольная группа. Группы были сопоставимы по всем клиническим характеристикам. Пациентам 1 группы (n=48) проводилась ФДТ. Пациентам 2 группы лечения (n=51) проводился газожидкостный пилинг с физраствором, затем сразу после него ФДТ. Контрольную группу (3 группа) составили 30 практически здоровых женщин в возрасте 35-45 лет, у которых не проводилась терапия (таблица 1).

Таблица 1 – Дизайн исследования клинического этапа

| Период | неделя 0 | 1, 2, 3, 4 недели | 5 недель | 18 недель |
|---|---|---|---|---|
| Визиты | V1 | V2-V5 | V6 | V7 |
| Ознакомление с исследованием, сбор анамнеза, включение в исследование, скрининг. | + | | | |
| Проведение процедуры (для 1 группы — ФДТ, для 2-й группы ГЗП+ФДТ) | + | + | | |
| Фиксация нежелательных явлений или осложнений при их наличии | + | + | + | + |
| Фотодокументирование | + | | + | |
| Визуально-аналоговая шкала. | + | | + | |
| Оценка индекса качества жизни | + | | + | |
| Инструментальная оценка увлажненности и ТЭПВ | + | | + | + |
| Ультразвуковое дермосканирование | + | | + | + |
| Забор материала для гистологического исследования (коллаген 1 и 3 типов) | + | | | + |

**Характеристика клинических наблюдений**

В обеих группах ФДТ проводилась с использованием лазерного когерентного излучения, которое генерируется на сверхъярких светодиодах аппаратом ФС «ГАРМОНИЯ» РУ – ФСР 2011/10395, и фотосенсибилизатора хлорина Е6 (гель HELEO4 – Сферометаллохлорин™ 0,4%). Параметры аппарата: плотность мощности: 120 мВт/см$^2$, количество диодов: 600 шт, длина волны: 630 нм. Для проведения процедуры фототерапии излучатель располагали на расстоянии

50 см, время общего воздействия – 30 минут. Процедуры проводились 1 раз в 7 дней, на курс – 5 процедур. Во 2 группе перед проведением фотодинамической терапии проводилась процедура газожидкостного пилинга: использовался аппарат, позволяющий через специальные форсунки создавать поток смеси газа и микрокапель жидкости под давлением 5-7 бар (Aqua-oxygen EquipmcBt Ithun-1, РУ – ФСЗ 2009/05392).

**Методы исследования**

На доклиническом этапе проводилась процедура забора биоптата кожи и выполнено исследование по проникновению фотосенсибилизатора хлорина Е6 (гель HELEO4 – Сферометаллохлорин™ 0,4%). У 5 добровольцев на симметричных участках кожи после очищения средством с папаином (как перед процедурой) был нанесен фотосенсибилизатор. На одном из участков предварительно был проведен газожидкостный пилинг данной области. На первом участке (без ГЖП) была взята punch-биопсия на 15, 30 и 45 минуте экспозиции, но втором (с ГЖП) на 10, 20 и 30 минутах (время выбрано исходя из предполагаемых результатов улучшения проникновения после ГЖП). Punch-биоптат забирался с соблюдением всех правил асептики и антисептики в условиях процедурного кабинета. Биопсия выполнялась под местной анестезией 1%-ным раствором лидокаина с помощью специальной иглы для punch-биопсии диаметром 2 мм. Предварительно были проведены аллергопробы к лидокаину, подписаны информированные добровольные согласия на проведение процедуры забора биоптата и на анестезию. Исходя из полученных результатов было определено время экспозиции топического фотосенсибилизатора.

В исследовании на клиническом этапе применялись следующие методы: корнеометрия; измерение ТЭПВ; ультразвуковое дермасканирование; иммуногистохимическое исследование коллагена 1 и 3 типов; фотодокументация; визульно — аналоговая шкала (ВАШ); оценка качества жизни пациентов (ДИКЖ).

Для проведения корнеометрии использовался аппарат Courage + Khazaka electronic GmbH (ЕАЭС N RU Д-DE.PA03.B.89550/21). Для измерения трансэпидермальной потери воды (ТЭПВ) использовался датчик с проточной системой Tewameter® TM 300 (Courage&Khazaka). Для оценки структурных изменений в коже использовали метод ультразвукового дермасканирования с помощью аппарата Dub Cutis 22-75 ТРМ, Германия (РУ №РЗН 2016/5165 от 26.04.2017), датчик 50 МГц. Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартной методике с использованием первичных моноклональных

антител к коллагену I типа (клон RAH C11–0,1), коллагену III типа (клон RAH C33) «Имтек», Россия, а также системы детекции EnVision FLEX с диаминобензидином (DAKO, США). Фотодокументирование проводилось для визуальной оценки состояния кожи (Reveal Imager (США)). Оценка инволютивных изменений кожи проводилась на основании визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) с использованием цифровой видеокамеры «Aramo Smart Lite», ARAM HUVIS (Южная Корея). Состояние эмоциональной сферы оценивали на основе опросника Дерматологического Индекса Качества Жизни (ДИКЖ).

Статистический анализ результатов исследования проводился с использованием программы StatTech v. 3.0.9 (разработчик – ООО "Статтех", Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

### Результаты доклинического этапа исследования

На доклиническом этапе были получены следующие результаты: в биоптатах, полученных с участков без проведения газожидкостного пилинга на 15, 30, 45 минутах экспозиции наблюдается схожая гистологическая картина, как в биоптатах, взятых на 10, 20 и 30 минутах экспозиции после газожидкостного пилинга соответственно. Через 15 минут без ГЖП и через 10 минут с ГЖП: при окраске судан III видно скопление судан-положительного материала в придатках кожи с частичным распространением в область волосяных фолликул в интерстиции дермы (рисунок 1).

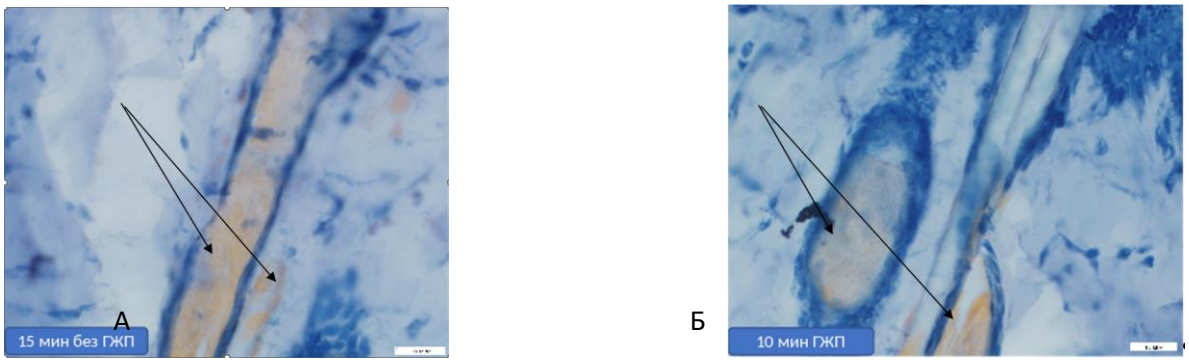



Рисунок 1 − Распределение фотосенсибилизатора при экспозиции (А) 15 минут без проведения ГЖП; (Б) 10 минут при предварительном проведении ГЖП

Через 30 минут без ГЖП и через 20 минут с ГЖП: при окраске судан III наблюдалось распространение судан-положительного материала в интерстиции в виде мелких капель по ходу коллагеновых волокон на глубину до подкожной жировой клетчатки (рисунок 2).

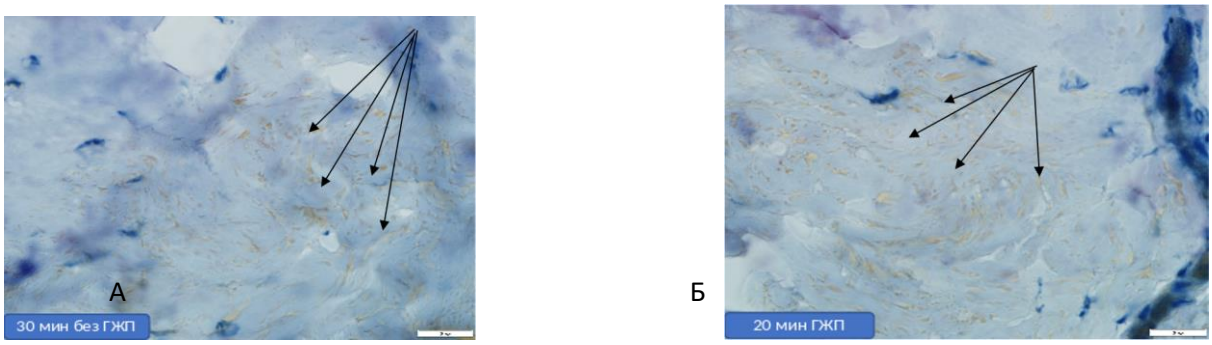



Рисунок 2 − Распределение фотосенсибилизатора при экспозиции (А) 30 минут без проведения ГЖП; (Б) 20 минут при предварительном проведении ГЖП

Через 45 минут без ГЖП и через 30 минут с ГЖП при окраске судан III визуализируются крупные сформированные липидные капли в дерме (рисунок 3).

Таким образом, оптимальным является время экспозиции, когда фотосенсибилизатор находится в виде мелких капель в дерме, что соответствует 30 минутам, если не проводился предварительно газожидкостный пилинг и через 20 минут при его проведении. Данное время было обозначено для протоколов процедур на клиническом этапе исследования в соответствующих группах.

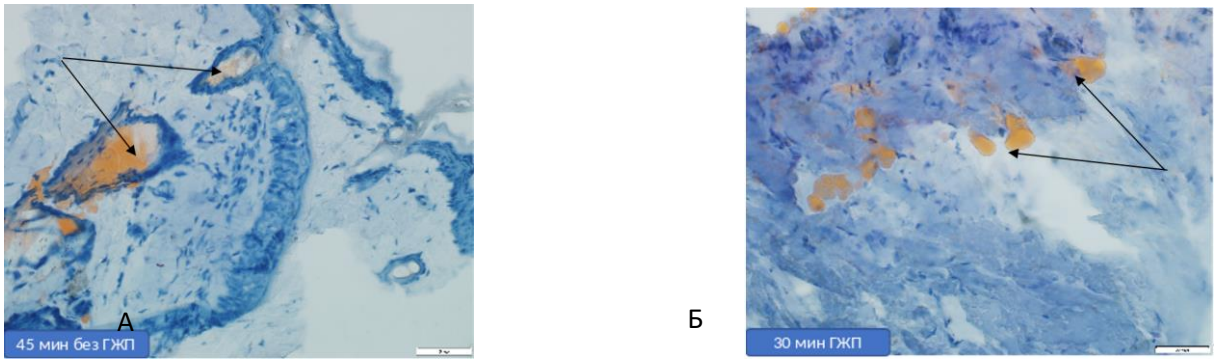



Рисунок 3 − Распределение фотосенсибилизатора при экспозиции (А) 45 минут без проведения ГЖП; (Б) 30 минут при предварительном проведении ГЖП

**Результаты клинического этапа исследования**

Исследования, выполненные в работе, позволили выявить динамику лечения в группах пациентов с применением выбранных методов терапии коррекции клинических признаков фото – и хроностарения кожи.

В обеих группах после терапии отмечались статистически значимые изменения показателя корнеометрии. Положительная динамика более выражена в группе 2. Однако преимущество сочетанного метода (2 группа) наблюдаются только в ранние сроки. Отдаленные результаты наблюдений (3 месяца) показали сопоставимость результатов (таблица 2).

Таблица 2 − Анализ динамики показателей корнеометрии в зависимости от группы

| Группа | Этапы наблюдения (корнеометрия) | | | | | | Достоверность |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | До терапии | | После курса | | Через 3 месяца | | |
| | Me | Q1 – Q3 | Me | Q1 – Q3 | Me | Q1 – Q3 | |
| 1 группа | 42,9 | 38 – 47 | 65,1 | 61 – 68 | 60,3 | 56 – 63 | $p_{ДО-3\ мес} < 0,001^*$ $p_{ПОСЛЕ-к\ 3\ мес} = 0,016^*$ |
| 2 группа | 42,3 | 37 – 46 | 70,5 | 68 – 72 | 60,9 | 56 – 63 | $p_{ДО-ПОСЛЕ} < 0,001^*$ $p_{ДО-3\ мес} < 0,001^*$ $p_{ПОСЛЕ-3\ мес} < 0,001^*$ |
| 3 группа | 43,1 | 37 – 48 | 42,7 | 38 – 46 | 40,8 | 36 – 45 | p=0,565 |
| Сравнение между группами | p=0,782 | | $p_{1-2\ гр} < 0,001^*$ $p_{1-3\ гр} < 0,001^*$ $p_{2\ 3\ гр} < 0,001^*$ | | $p_{1-2\ гр} = 0,450$ $p_{1-3\ гр} < 0,001^*$ $p_{2-3\ гр} < 0,001^*$ | | Примечание: * – p<0,05 |

Анализ динамики показателей ТЭПВ (таблица 3) выявил преимущество сочетанного метода (2 группа) как в сроки после терапии, так и в отдаленные сроки

наблюдений (3 месяца).

Таблица 3 – Анализ динамики показателя ТЭПВ в зависимости от группы

| Группа | Этапы наблюдения | | | | | | Достоверность |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ТЭПВ до | | ТЭПВ после | | ТЭПВ через 3 месяца | | |
| | Me | Q1 – Q3 | Me | Q1 – Q3 | Me | Q1 – Q3 | |
| 1 группа | 20,5 | 18 – 23 | 14,6 | 13 – 15 | 16,5 | 14 – 17 | $p_{ДО – ПОСЛЕ}$ <0,001*<br>$p_{ДО – 3 мес}$ <0,001*<br>$p_{ПОСЛЕ – 3 мес}$ =0,019* |
| 2 группа | 21,1 | 19 – 23 | 13,8 | 13 – 14 | 14,1 | 13 – 15 | $p_{ДО – ПОСЛЕ}$ <0,001*<br>$p_{ДО – 3 мес}$ < 0,001*<br>$p_{ПОСЛЕ – 3 мес}$ = 0,037* |
| 3 группа | 21,3 | 18 – 22 | 20 | 18 – 22 | 22 | 19 – 22 | P=0,683 |
| Сравнение между группами | p=0,920 | | $p_{1– 2 гр}$ =0,011*<br>$p_{1 -3 гр}$ <0,001*<br>$p_{2 3 гр}$ <0,001* | | $p_{1– 2 гр}$ =0,002*<br>$p_{1 -3 гр}$ <0,001*<br>$p_{2 3 гр}$ <0,001* | | Примечание:<br>* – p<0,05 |

Анализ динамики показателей толщины эпидермиса (таблица 4) выявил преимущество сочетанного метода (2 группа) также в ранние сроки после терапии, а отдаленные результаты наблюдений (3 месяца) показали сопоставимость результатов.

Таблица 4 – Анализ динамики толщины эпидермиса (мкм) в зависимости от группы

| Группа | Толщина эпидермиса | | | | | | Достоверность |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | До терапии | | После терапии | | Через 3 месяца | | |
| | Me | Q1 – Q3 | Me | Q1 – Q3 | Me | Q1 – Q3 | |
| 1 группа | 118 | 104–134 | 93 | 81–101 | 102 | 89–116 | $p_{ДО –ПОСЛЕ}$ <0,001*<br>$p_{ДО –3 мес}$ <0,001*<br>$p_{ПОСЛЕ –3 мес}$ <0,001* |
| 2 группа | 119 | 106–133 | 86 | 78–98 | 99 | 90–109 | $p_{ДО –ПОСЛЕ}$ <0,001*<br>$p_{ДО –3 мес}$ <0,001*<br>$p_{ПОСЛЕ –3 мес}$ <0,001* |
| 3 группа | 116 | 110–127 | 115 | 109–128 | 117 | 110–127 | p=0,667 |
| Сравнение между группами | p=0,711 | | $p_{1– 2 гр}$ =0,027*<br>$p_{1 -3 гр}$ <0,001*<br>$p_{2 3 гр}$<0,001* | | $p_{1– 2 гр}$ =0,270<br>$p_{1 -3 гр}$ <0,001*<br>$p_{2 3 гр}$ <0,001* | | – |
| Примечание: * различия показателей статистически значимы при p<0,05. | | | | | | | |

По результатам ультразвукового исследования наиболее выраженная динамика в отношении толщины эпидермиса в сроки после терапии наблюдалась во 2 группе. В тоже время через 3 месяца наблюдались сопоставимые результаты в 1 и 2 группах.

В отношении показателей толщины дермы в сроки после терапии результаты в 1 и 2 группах были сопоставимы, однако через 3 месяца более значимая динамика отмечалась в 1 группе (таблица 5).

Таблица 5 – Анализ динамики толщины дермы в зависимости от группы

| Группа | Толщина дермы | | | | | | Достоверность |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | До терапии | | После терапии | | Через 3 месяца | | |
| | Me | Q1 – Q3 | Me | Q1 – Q3 | Me | Q1 – Q3 | |
| 1 группа | 1450 | 1320 – 1556 | 1540 | 1460 – 1714 | 1786 | 1723 – 2021 | $p_{ДО-ПОСЛЕ}$ <0,001*<br>$p_{ДО-3\ мес}$ <0,001*<br>$p_{ПОСЛЕ-3\ мес}$ <0,001* |
| 2 группа | 1469 | 1341 – 1658 | 1615 | 1480 – 1836 | 1970 | 1828 – 2233 | $p_{ДО-ПОСЛЕ}$ <0,001*<br>$p_{ДО-3\ мес}$ <0,001*<br>$p_{ПОСЛЕ-3\ мес}$ <0,001* |
| 3 группа | 1471 | 1321 – 1597 | 1476 | 1325 – 1580 | 1478 | 1335 – 1573 | P=0,792 |
| Сравнение между группами | P=0,373 | | $p_{1-2\ гр}$=0,177<br>$p_{1-3\ гр}$=0,024*<br>$p_{2-3\ гр}$<0,001* | | $p_{1-2\ гр}$=0,007*<br>$p_{1-3\ гр}$<0,001*<br>$p_{2-3\ гр}$<0,001* | | – |
| Примечание: * различия показателей статистически значимы при p<0,05. | | | | | | | |

В работе был проведен анализ динамики показателя коллагена 1 и 3 типа в зависимости от группы по данным иммунногистохимического исследования. До исследования показатели коллаген 1 типа в 1 и 2 группах были сопоставимы (p=0,5, критерий Краскела–Уоллиса). Проведенный анализ показал, что в группе 1 были выявлены статистически значимые изменения в сторону увеличения показателя после терапии (p<0,001, критерий Уилкоксона). В группе 2 также были установлены статистически значимые увеличения показателя (p<0,001, критерий Уилкоксона). В группе 3 не было выявлено достоверных изменений показателя. При сравнении показателей 1 и 2 группы между собой после лечения не удалось установить статистически значимых различий (p = 0,499, U–критерий Манна–Уитни). До исследования группы были сопоставимы по показателю коллаген 3 типа (p = 0,779, используемый критерий Краскела–Уоллиса).

Проведенный анализ показателя коллаген 3 типа показал, что в группе 1 были выявлены статистически значимое снижение показателя (p<0,001, критерий Уилкоксона). В процессе анализа в группе 2 нами были установлены статистически значимое снижение (p<0,001, критерий Уилкоксона). В группе 3 не удалось выявить изменений показателя. При сравнении показателей 1 и 2 группы между собой после лечения статистически значимых различий не наблюдалось (p=0,499, U–критерий Манна–Уитни). Таким образом, анализ динамики показателей коллагена 1 и 3 типа не выявил достоверных различий межу группами 1 и 2, что свидетельствует о влияние на коллаген образование в коже именно фотодинамической терапии, при этом газожидкостный пилинг на данные показатели не влияет.

Основные клинические симптомы хроно- фотостарения оценивались с помощью ВАШ. При сравнительном анализе показателя ВАШ ксероз кожи после полученного лечения между 1 и 2 группой удалось выявить статистически значимые различия (p = 0,020), при этом снижение показателя в 1 группе составило − 50,7%, во 2 группе – 68,6%. При анализе показателя ВАШ цвет и тон кожи после полученного лечения между 1 и 2 группой были выявлены статистически лучшие результаты во 2 группе (p=0,004). Снижение показателя ВАШ цвет и тон кожи в 1 группе составило – 48,4%, во 2 группе – 64,6%. При анализе ВАШ пигментация кожи после полученного лечения между 1 и 2 группой были выявлены статистически лучшие результаты во 2 группе (p=0,001), так в 1 группе показатель ВАШ пигментация снизился на 21,1%, во 2 группе – 61,9%. После лечения показатели ВАШ тургор в 1 и 2 группах не имели статистически значимых различий (p=0,272), снижение показателя составило 46,1% и 45,3% соответственно. После лечения показатели ВАШ эластичность в 1 и 2 группах не имели статистически значимых различий (p=0,701), а его динамика составила 41,5% и 45,2% соответственно в 1 и 2 группах. Следует отметить, что после лечения показатели ВАШ мимические морщины в 1 и 2 группах не имели статистически значимых различий (p=0,102, используемый U–критерий Манна–Уитни), при этом снижение составило 20,3% и 21,5% соответственно. В ходе анализа изменений показателя ВАШ гравитационные морщины после лечения в каждой группе нам не удалось установить статистически значимых изменений (p1 группа = 0,139, p2 группа = 0,239, p1 группа = 1,000). Таким образом, не удалось выявить изменений после лечений только по выраженности гравитационных морщин, что является закономерным, так как они обусловлены перераспределением жировых пакетов

лица, на что методы ФДТ и ГЖП практически не влияют.

При оценке результатов ВАШ суммарный были выявлены преимущества сочетанного метода (ГЖП+ФДТ) против моно-ФДТ (1 группа M ± SD: до лечения – 37,1 ± 1,2; после лечения – 24,9 ± 1,4; 2 группа Me (Q1-Q3) мкм: до лечения – 36,9 ±2,3, после – 21,1±1,8). Следовательно, между полученными результатами в 1 и 2 группах наблюдаются достоверные различия (p = 0,003), динамика суммарного ВАШ составила 32,7% и 42,8% соответственно. Таким образом, сочетанный метод (газожидкостный пилинг и ФДТ) показал преимущества перед монотерапией ФДТ по данным динамики суммарного ВАШ (p = 0,003). Сочетанный метод показал большую эффективность в отношении таких показателей, как ВАШ ксероз, ВАШ цвет и тон кожи, ВАШ пигментация. В тоже время в группах 1 и 2 после лечения не было выявлено достоверных изменений показателей: ВАШ тургор, ВАШ эластичность, ВАШ мимические морщины, ВАШ гравитационные морщины.

В результате анализа данных показателей качества жизни ДИКЖ (рисунок 4) достоверная динамика отмечалась в 1 и 2 группах, при этом снижение индекса в 1 группе составило – 35,4%, во 2 группе – 58,8%, что подтверждает более высокую эффективность сочетанного метода.

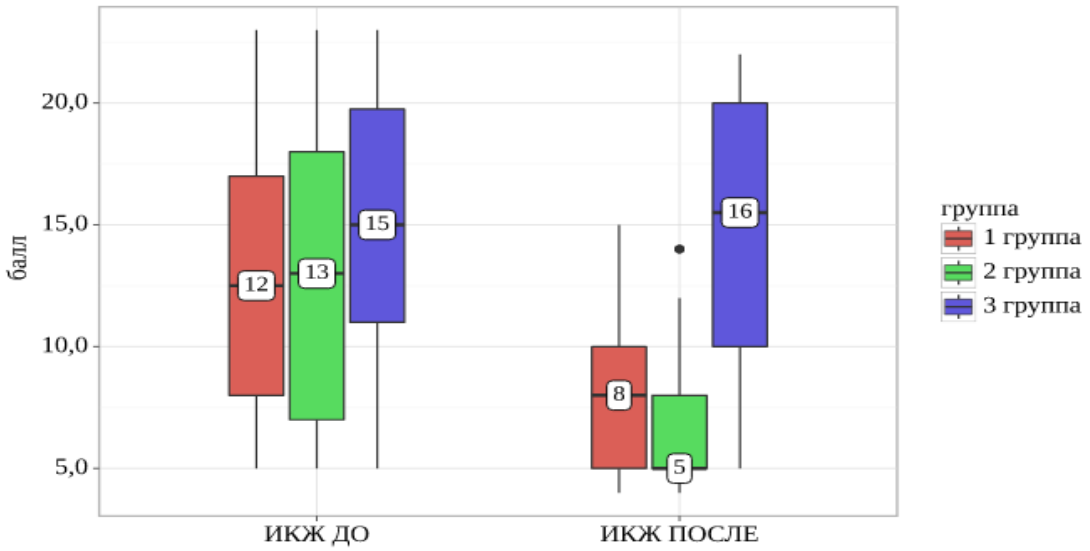



Рисунок 4 − Анализ динамики показателей ДИКЖ (баллы) в зависимости от группы

В процессе исследования в 1 и 2 группах значимых нежелательных явлений не наблюдалась. Имело место эритема кожи до 30 минут после процедуры и ощущение тепла во время процедуры, которые самостоятельно проходили и не доставляли дискомфорта пациентам.

# ВЫВОДЫ

1. Проведение курса процедур фотодинамической терапии с хлорином Е6, в том числе в сочетанном методе с газожидкостным пилингом, приводит к достоверному увеличению количества коллагеновых волокон 1 типа ($p< 0,001$) и к достоверному снижению количества коллагеновых волокон 3 типа ($p<0,001$) по данным иммунногистохимического исследования при полуколичественном методе подсчета.
2. Сочетанное применение газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии у пациенток с признаками фото- и хроностарением после терапии в большей степени ($p<0,05$), чем моно-ФДТ приводит к улучшению показателей трансэпидермальной потери воды и уровня увлажненности кожи после лечения, при этом через 3 месяца достоверная разница между методами лечения сохраняется только в отношении трансэпидермальной потери воды.
3. При сочетанном проведении газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии уменьшение толщины эпидермиса достоверно более выраженно ($p=0,027$), а увеличение толщины дермы сопоставимо с моно-фотодинамической терапией. Наибольшее увеличение толщины дермы в группах лечения наблюдается через 3 месяца и при применении сочетанного протокола достоверно выше 34,1% против 23,2% соответственно.
4. Разработанный сочетанный метод терапии инволютивных изменений на фоне фотоповреждения обладает более высокой клинической эффективностью по сравнению с моно-фотодинамической терапией, что подтверждается динамикой суммарного балла ВАШ − 42,8% и 32,7% соответственно, при этом оба метода характеризуются благоприятным профилем безопасности: отсутствие побочных эффектов или осложнений.
5. Сочетанный метод в большей степени, чем фотодинамическая терапия способствует повышению показателей качества жизни пациенток с клиническими признаками фото- и хроностарения по данным динамики индекса ДИКЖ, который редуцировал в 1 группе на 35,4%, во 2 группе – 58,8%, что подтверждает более высокую эффективность сочетанного метода.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для достижения лучших результатов, а также повышения приверженности пациента к лечению, рекомендуется проведение процедуры газожидкостного пилинга перед фотодинамической терапией со сферометаллохлориномтм (производное хлорина Е6).
2. При проведении сочетанной процедуры газожидкостного пилинга и фотодинамической терапии со сферометаллохлориномтм (производное хлорина Е6) рекомендован следующий протокол: после очищения кожного покрова проводится процедура газожидкостного пилинга (с физраствором) 7-10 минут. Затем 20 минут экспозиция фотосенсибилизатора хлорина Е6 (гель HELEO4 − Сферометаллохлорин™ 0,4%), после чего поверхность кожи очищается влажной салфеткой и производится воздействие лазерного когерентного излучения на расстоянии 50 см. Параметры воздействия: длина волны: 630 нм, плотность мощности − 120 мВт/см2. Рекомендуемый курс – 5 процедур, проводимых 1 раз в 7 дней.
3. Противопоказаниями для проведения сочетанного метода являются противопоказания для проведения фотодинамической терапии и газожидкостного пилинга.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Целесообразно дальнейшее исследование иммуногистохимическим методом активности матричных металлопротеиназ в дерме для изучения взаимосвязи снижения количества коллагена 3 и активацией ММП-3.

Необходимо дальнейшее изучение сочетанной методики газожидкостного пилинга с фотодинамической терапией с использованием других фотосенсибилизаторов (АЛК, МАЛ).

На основании полученных данных необходимо изучение сочетанных протоколов с фотодинамической терапией возможностей и газожидкостного пилинга при использовании различных активных жидких составляющих (лекарственные препараты), а также изучение возможности проведения доставки непосредственно фотосенсибилизатора в жидкой форме методом газожидкостного пилинга в кожу перед проведением фотодинамической терапии.

На основании настоящего исследования и разработанного сочетанного протокола процедуры, необходимо дальнейшее исследование и научное обоснование его применения при различных заболеваниях и патологических состояниях кожи.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛК – 5-аминолевулиновая кислота
ВАШ – визуальная аналоговая шкала
ГЖП – газожидкостный пилинг
ДИКЖ – дерматологический индекс качества жизни
ТЭПВ – трансэпидермальная потеря воды
ФДТ – фотодинамическая терапия
ФС – фотосенсибилизатор
ММП – матриксные металлопротеиназы
МАЛ – метиловый эфир аминолевулиновой кислоты

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бочкова, Н.В. Фотодинамическая терапия в эстетической медицине – современное состояние проблемы / Н.В. Бочкова, **Л.С. Холупова** // **Физиотерапевт**. – 2019. – № 3. – С. 68-75.

2. Суркичин, С.И. Использование фотодинамической терапии в лечении фотоповреждений кожи (обзор литературы) / С.И. Суркичин, Н.В. Грязева, **Л.С. Холупова**, Н.В. Бочкова // **Медицинский алфавит**. – 2019. – Т. 1, № 7(382). – С. 19-23.

3. Бочкова, Н.В. Опыт применения нового методологического подхода к фотодинамической терапии в косметологии / Н.В. Бочкова, **Л.С. Холупова,** Д.О. Юрченко **// Медицинский алфавит**. – 2019. – Т. 2, № 26(401). – С. 25-28.

4. Суркичин, С.И. Изменение коллагена 1-го и 3-го типов в фотоповрежденной коже после фотодинамической терапии: обзор и опыт / С.И. Суркичин, Е.А. Коган, **Л.С. Холупова** // **Фарматека**. – 2020. – Т. 27, № 8. – С. 68-72.

5. Холупова, Л.С. Оценка безопасности воздействия излучения длин волн

410, 580 и 630 нм для кожи и слизистой оболочки / **Л.С. Холупова,** С.И. Суркичин // **Физиотерапия, бальнеология и реабилитация**. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 78-82.

6. Суркичин, С.И. Фотодинамическая терапия для коррекции инволютивных изменений кожи лица. / С.И. Суркичин, Н.В. Бочкова, **Л.С. Холупова // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация**. – 2020. – Т. 19, № 3. – С. 140-144.

7. Суркичин, С.И. Опыт применения фотодинамической терапии при красном плоском лишае вульвовагинальной локализации / С.И. Суркичин, **Л.С. Холупова // Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2020. – Т. 23, № 6. – С. 408-413.

8. Круглова, Л.С. Оценка эффективности и безопасности фотодинамической терапии кожи / Л.С. Круглова, С.И. Суркичин, Н.В. Грязева, **Л.С. Холупова**, Р.Ю. Майоров // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2021. – Т. 24, № 2. – С. 187-196.

9. Суркичин, С.И. Влияние сочетанного применения газожидкостного пилинга и ФДТ на качество жизни пациенток с видимыми признаками инволютивных изменений кожи / С.И. Суркичин, **Л.С. Холупова // Медицинский алфавит**. – 2021. – № 34. – С. 32-34.

10. Суркичин, С.И. Изменение толщины эпидермиса и дермы в результате фотодинамической терапии с использованием хлорина Е6 / С.И. Суркичин, **Л.С. Холупова // Фарматека**. – 2021. – Т. 28, № 14. – С. 70-73.

11. Суркичин, С.И. Использование газожидкостного пилинга в качестве flash-ухода в эстетической медицине / С.И. Суркичин, **Л.С. Холупова // Эффективная фармакотерапия**. – 2022. – Т. 18, № 31. – С. 48-51.

12. Круглова, Л.С. Фотодинамическая терапия в дерматологии и косметологии: Руководство / Л.С. Круглова, С.И. Суркичин, Н.В. Грязева, **Л.С. Холупова.** − Москва: Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа **"ГЭОТАР-Медиа",** 2020. – 144 с.

13. Круглова, Л.С. Фотодинамическая терапия в дерматологии и косметологии: Учебно-методическое пособие / Л.С. Круглова, Н.В. Грязева, С.И. Суркичин, Н.В. Ромащенко, **Л.С. Холупова,** Р.Ю. Майоров, М. Авин. – Москва: Издательство: Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, 2021. – 72 с. − ISBN 978-5-6045809-1-2.