



ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr Agata Skalska – Stochaj

OCENA WPLYWU ZABIEGU RADIOFREKWENCJI NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI BIOFIZYCZNE SKÓRY

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor pracy
Prof. zw. dr hab. Leszek Kubisz

Praca wykonana w Zakładzie Biofizyki, Katedrze Biofizyki
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2018

Składam serdeczne podziękowania:

*Panu Prof. zw. dr hab. Leszkowi Kubiszowi
za nieocenioną pomoc,
wskazówki, które pozwoliły mi
na realizację niniejszej pracy,
a także za życzliwość okazywaną mi
w trakcie kolejnych etapów
mojej drogi naukowej.*

*Pragnę również podziękować
Prof. zw. dr hab. Feliksowi Jaroszykowi dr h.c.
za stworzenie warunków,
w których mogłam rozwijać się zawodowo.*

Bliskim za wsparcie.

Spis treści

Indeks skrótów	5
Wstęp	6
1. Anatomia i fizjologia skóry człowieka	8
1.1. Naskórek i jego warstwy	8
1.1.1. Komórki naskórka	10
1.1.2. Budowa bariery naskórkowej	11
1.1.3. Proces keratynizacji naskórka	13
1.1.4. Regulacja proliferacji, czynniki wzrostu naskórka	13
1.1.5. Kinetyka przelnaskórkowa wody, poziom nawilżenia	14
1.1.6. Naturalny czynnik nawilżający NMF	15
1.2. Skóra właściwa.....	16
1.2.1. Włókna elastynowe w skórze właściwej	17
1.2.2. Włókna kolagenowe w skórze właściwej.....	17
1.2.3. Białka szoku termicznego HSP	21
1.3. Tkanka podskórna	21
2. Starzenie się skóry człowieka	22
2.1. Starzenie wewnętrzne	22
2.2. Starzenie zewnętrzne	23
2.3. Proces starzenia się twarzoczaszki	24
2.4. Mechanizm powstawania zmarszczek i ich rodzaje.....	27
3. Instrumentalne metody oceny parametrów biofizycznych skóry	29
3.1. Pomiar stanu nawodnienia warstwy rogowej naskórka	31
3.2. Pomiar suchości skóry.....	32
3.3. Pomiar funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka.....	32
3.4. Pomiar wiskoelastyczności skóry	36
3.5. Pomiar odczynu skóry	37
3.6. Ocena stopnia przetłuszczania się skóry	37
3.7. Ocena stopnia zabarwienia skóry.....	38
3.8. Pomiar topografii, gładkości powierzchni skóry	38
3.9. Pomiar skórniego przepływu krwi	38
3.10. Pomiar obrazowy USG	39
3.11. Mikroskopia	41

4. Promieniowanie elektromagnetyczne w terapii	42
4.1. Zastosowanie kliniczne, efekty biologiczne oraz skuteczność diatermii.....	43
4.2. Diatermia o częstotliwości radiowej	44
5. Metody terapii z zastosowaniem częstotliwości radiowych	45
5.1. Metoda monopolarna	47
5.2. Metoda bipolarna	48
5.3. Metoda unipolarna	48
5.4. Metoda multipolarna	49
5.5. Metoda frakcyjnej radiofrekwencji mikroigłowej	49
6. Założenia i cele badawcze	52
7. Materiały i metody badawcze	53
7.1. Opis grupy badanej	53
7.2. Metody badawcze.....	53
7.2.1. Tewametria – pomiar funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka	54
7.2.2. Korneometria – pomiar nawodnienia warstwy rogowej naskórka	55
7.2.3. Metody analizy statystycznej	56
7.2.4. Ankieta autorska	56
7.3. Metodyka zabiegowa i pomiarowa	57
7.3.1. Protokół zabiegowy radiofrekwencji monopolarnej	57
7.3.2. Protokół zabiegowy radiofrekwencji bipolarnej	58
8. Wyniki badań.....	59
8.1. Ocena tewametryczna funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka.....	59
8.2. Ocena korneometryczna nawodnienia warstwy rogowej naskórka	63
8.3. Analiza ankiety autorskiej.....	70
8.4. Ocena wizualna skóry twarzy po terapii częstotliwościami radiowymi	78
9. Dyskusja.....	80
10. Wnioski.....	89
11. Streszczenie	90
12. Summary.....	92
13. Piśmiennictwo.....	94
14. Spis rycin	107
15. Spis tabel.....	111
16. Załączniki.....	112

Indeks skrótów

- AGE** – (ang. advanced glycation end products) zaawansowane produkty finalne glikacji
- CE** – (ang. cornified cell envelop) otoczka zrogowaciała komórek
- CLE** – (ang. cornified lipid envelop) otoczka lipidowa komórek
- DEJ** – (ang. dermo-epidermal junction) granica skórno - naskórkowa
- ECM** – (ang. extracellular matrix) macierz międzykomórkowa
- EGF** – (ang. epidermal growth factor) naskórkowy czynnik wzrostu
- EIT** – (ang. electrical impedance tomography) tomografia impedancyjna
- HA** – (ang. hialuron acid) kwas hialuronowy
- HFUS** – (ang. high frequency ultrasound) ultrasonografia wysokiej częstotliwości
- HIFU** – (ang. high intensity focused ultrasound) skoncentrowana wiązka fal ultradźwiękowych o dużym natężeniu
- IGF-1** – (ang. insulin like growth factor 1) insulinopodobny czynnik wzrostu 1
- IPL** – (ang. intense pulsed light) intensywnie pulsujące światło
- KGF** – (ang. keratinocyte growth factor) czynnik wzrostu keratynocytów
- LB** – (ang. lamellar bodies) ciała lamelarne dawniej zwane ciałkami Odlanda
- LED** – (ang. light emitting diode) dioda elektroluminescencyjna
- MCG** – (ang. membrane coating granules) keratynosom m
- MMP** – (ang. matrix metalloproteinase) metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej
- NMF** – (ang. natural moisturizing factor) naturalny czynnik nawilżający
- PDO** – (polidioksanon) silne włókno syntetyczne, nici
- PRP** – (ang. platelet rich plasma) osocze bogatopłytkowe
- RA** – (ang. resistance air) rezystancja powietrza
- RSC** – (ang. resistance of stratum corneum) rezystancja naskórka
- RF** – (ang. radiofrequency) radiofrekwencja, terapia częstotliwościami radiowymi
- RSTL** – (ang. relaxed skin tension lines) linie zmniejszonego napięcia skórno
- SC** – (łac. stratum corneum) warstwa rogowa
- SCCE** – (ang. stratum corneum chymotryptic enzyme) proteazy warstwy rogowej
- SENEB** – (ang. subepidermal nonechogenic band) pasmo granicy skórno - naskórkowej
- SLEB** – (ang. subepidermal lowechogenic band) obszar o obniżonej echogeniczności
- SMAS** – (ang. superficial muscular aponeurotic system) system powięzi mięśniowej
- SSWL** – (ang. skin surface waterloss after occlusion) nawodnienie powierzchni skóry po okluzji
- TEWL** – (ang. transepidermal water loss) przeznaskórkowa utrata wody
- TGF- α** – (ang. transforming growth factor alpha) transformujący czynnik wzrostu α
- TG** – (ang. transglutaminaze) transglutaminaza
- TOT** – (ang. turn over time) czas przejścia komórki z warstwy podstawnej do rogowej

Wstęp

Kosmetologia i dermatologia estetyczna to najprężniej rozwijające się działy współczesnej medycyny. Zabiegi przeciwstarzeniowe stają się coraz mniej inwazyjne, a protokoły zabiegowe opierają się na synergii różnych metod fizykalnych [1]. Początek chirurgii plastycznej datowany jest na rok 1893, kiedy to pierwszy raz zastosowano tłuszcz autoimmunologiczny na zagłębione blizny w obrębie twarzy (G.A. Neuber). Pierwszy facelifting, poprzez wycięcie nadmiaru skóry z okolic przyusznych, wykonał w 1901 r. w Berlinie niemiecki chirurg E. Hollander, u polskiej arystokratki. Początek XX w. to okres iniekcji oczyszczonej parafiny, stosowanej do czasu stwierdzenia odczynu typu ciała stałego [2]. Paradoksalnie, dzięki wojnom, rozwinęła się chirurgia plastyczna. W 1932 r. odbył się I Międzynarodowy Kongres Historii Medycyny w Bukareszcie, gdzie wprowadzono pojęcie kosmetologii, której synonimem stała się dermatologia estetyczna. W 1965 r. zdecydowano, że problemem estetyki będą zajmowały się szkoły dermatologiczne. Za ojca medycyny estetycznej uznaje się francuskiego endokrynologa Jeana Jacques'a Legranda, a rok 1973, kiedy założył Francuskie Towarzystwo Medycyny Estetycznej, przyjmuje się za oficjalny jej początek, jako dyscypliny medycznej. Do Polski trafiła ona dwadzieścia lat później, wraz z powołaniem Sekcji Medycyny Estetycznej Polskiego Towarzystwa Lekarskiego. Współczesna medycyna estetyczna narodziła się w XX w., jako dział medycyny, którego domeną jest dbałość, o jakość życia pacjentów poprzez stosowanie zabiegów poprawiających ich fizyczną atrakcyjność, zapobiegających starzeniu się, a także cofających efekty upływu czasu. Prekursorem rozwoju dermatologii estetycznej od lat 50-tych w Polsce była Irena Rudowska, dermatolog zajmująca się kosmetyką lekarską. Medycynę estetyczną do Polski sprowadził Andrzej Ignaciuk, dzięki niemu i 14 innym lekarzom w 1993 r. powołano Sekcję Medycyny Estetycznej Polskiego Towarzystwa Lekarskiego [1]. Od 1999 r. działa Stowarzyszenie Dermatologów Estetycznych, a od 2001r., przy Polskim Towarzystwie Dermatologicznym, działa Sekcja Dermatologii Estetycznej.

W 2014 r. na Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu, na Wydziale Lekarskim II otworzono Studia Podyplomowe - Estetyka Twarzy. W 2018 powstało Polskie Towarzystwo Lekarzy Estetyki Twarzy (PTLET), upowszechniające zdobycze medycyny estetycznej, zrzeszające lekarzy i reprezentujące tą gałąź wiedzy w Polsce i za granicą,

W medycynie estetycznej twarzy wyróżnić można zabiegi: kwas hialuronowy, peelingi medyczne, nici PDO (polidiodksanon), laser frakcyjny, plazma azotowa, skoncentrowana wiązka fal ultradźwiękowych HIFU (ang. high intensity focused ultrasound) [4].

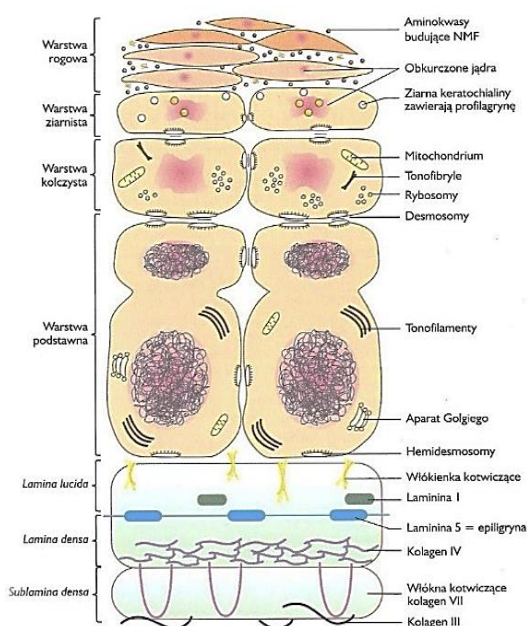
Najlepsze rezultaty uzyskuje się stosując triadę zabiegową, czyli laser frakcyjny, radiofrekwencję frakcyjną mikroigłową oraz HIFU działające na SMAS (ang. superficial muscular aponeurotic system) system powięzi mięśniowej odpowiadający za jędrność skóry. Współczesna kosmetologia jest interdyscyplinarną dziedziną wiedzy z zakresu ogólnych przedmiotów medycznych, chemicznych i biologicznych. Dotyka zagadnień z obszaru dermatologii i medycyny estetycznej. W kosmetologii stosuje się również zabiegi fizykoterapeutyczne. Kosmetologia estetyczna ma na celu działanie przeciwstarzeniowe bazujące na metodach nieinwazyjnych i nastawiona jest na prewencję. Proces starzenia, jak wynika z definicji, oznacza zmiany kliniczne, histologiczne i biochemiczne, a ich zrozumienie jest niezbędne do podejmowania właściwych kierunków profilaktycznych [3]. W celu uzyskania efektu odmłodzenia należy wszystkie wyżej wymienione zmiany cofnąć, zainicjować procesy regenerujące skórę. Terapia przeciwstarzeniowa pogrupowana jest w następujących kategoriach: pielęgnacja kosmetyczna, środki miejscowe, środki uogólnione oraz procedury zabiegowe. W kosmetycznych procedurach zabiegowych znalazły zastosowanie: promieniowanie elektromagnetyczne o częstotliwościach radiowych, fotoodmładzanie skóry diodami LED (ang. light emitting diode), intensywne pulsujące światło IPL (ang. intense pulsed light) oraz mezoterapia bezigłowa, mikroigłowa, nanoigłowa, mikodermabrazja, peelings chemiczne, retinoidy mające na celu nasilenie normalnego procesu jej złuszczenia i niwelowanie niekorzystnych zmian skórnych. Obecnie w medycynie estetycznej stosuje się terapie osoczem bogatopłytkowym, płytkowe czynniki wzrostu PRP (ang. platelet rich plasma), oxybrazję czyli system oparty na hiperbarycznym tlenie wywołującym zjawisko infuzji, służącym wprowadzaniu substancji aktywnych, przy jednoczesnym działaniu tlenu na skórę [4]. Wszystkie wymienione zabiegi przeciwstarzeniowe, mają na celu utrzymywanie nawilżenia skóry na wysokim poziomie, pobudzanie komórek skóry do przebudowy (remodelingu) jej struktur. Rosnące zainteresowanie zabiegami fotoodmładzania i odnowy naskórka (resurfacingu), doprowadziło do ulepszenia metod zabiegowych. W porównaniu z tradycyjnymi metodami, rozwiązania technologiczne, gwarantują szybszy proces gojenia oraz rzadsze występowanie efektów ubocznych. Zapotrzebowanie na tego typu zabiegi wciąż rośnie i dlatego konieczne są dalsze badania, w celu opracowania innowacyjnych metod z naciskiem na bezpieczeństwo i skuteczność. Poniższa praca może uzupełnić obecny stan wiedzy o porównanie metod terapii częstotliwościami radiowymi, przedstawić możliwości remodelingu oraz wskazać faktyczny czas utrzymywania się efektu wolumetrycznego skóry twarzy po terapii częstotliwościami radiowymi.

1. Anatomia i fizjologia skóry człowieka

Rozwój technik z zakresu biochemii, histologii, immunologii, biologii molekularnej doprowadził do lokalizacji struktur wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych w naskórku, skórze właściwej i tkance podskórnej. Określono poszczególne funkcje skóry tj. ochronę przed czynnikami mechanicznymi, chemicznymi, bakteryjnymi, regulację cieplną, wydzielniczą, równowagę wodno-elektrolitową, reakcje immunologiczne, odczuwanie, przewodzenie bodźców zewnętrznych, metabolizm białek, lipidów, węglowodanów, hormonów i witamin. Skóra człowieka składa się z: naskórka, skóry właściwej, tkanki podskórnej.

1.1. Naskórek i jego warstwy

Naskórek zbudowany jest z nabłonka wielowarstwowego płaskiego, który ulega keratynizacji i bierze udział w rozwoju przydatków skóry. Składa się z komórek żywych - keratynocytów, które podczas procesu keratynizacji przekształcają się, tworząc warstwy o odmiennej specyfice. Proces ten wynika z nieprzerwanych podziałów mitotycznych komórek warstwy podstawnej naskórka (*stratum basale*), zwanej także warstwą rozrodczą (*stratum germinativum*). Nowo powstałe komórki rozpoczynają migrację w kierunku powierzchni naskórka, różnicują się w kierunku keratynocytów i tworzą warstwę kolczystą (*stratum spinosum*). Strefa, w której widoczne są ziarnistości to warstwa ziarnista (*stratum granulosum*). Powyżej znajduje się warstwa jasna (*stratum lucidum*). Najbardziej powierzchownie leży warstwa zrogowaciała (*stratum corneum*). Komórki te stanowią martwe, bezjądrzaste płytki rogowe (*squamulae corneae*). Keratynocyty tracąc jądro, przekształcają się w komórki martwe, czyli korneocyty [5] (rycina 1).



Rycina 1. Budowa naskórka oraz elementów NMF [1]

Warstwa podstawna (*stratum basale*)

Warstwa podstawna jest utworzona przez jedną warstwę komórek. Około 50% z nich jest w trakcie mitozy, w której powstają komórki warstwy kolczystej, leżącej wyżej. Komórki podstawne z komórkami kolczystymi, przez desmosomy tworzą warstwę podstawną. Keratyny 5 i 14 tworzą cytoskielet, który nadaje komórkom elastyczność. Komórki podstawne są odpowiedzialne za podtrzymywanie naskórka, poprzez odnawianie populacji komórek. Zazwyczaj komórki pnia dzielą się wolno, ale podczas gojenia się ran oraz ekspozycji na czynnik wzrostu proces ten jest przyspieszony. Z nich powstają przejściowo dzielące się komórki, odpowiadające za większość podziałów komórkowych w warstwie podstawnej [5].

Warstwa kolczysta (*stratum spinosum*)

Warstwa kolczysta składa się komórek wielobocznych, powiązanych ze sobą desmosomów, zbudowanych z białek. Swoją nazwę zawdzięcza wystającym wypustkom-desmosomom, które odgrywają rolę w przyleganiu i transporcie komórkowym. Cytoplazma tych komórek zawiera tonofilamenty, czyli włókna zbudowane z białek, zgrupowane w pakiety zwane tonofibrylami. W sytuacji zwiększonej proliferacji, jak gojenie ran, rógowacenie słoneczne, łuszczyca, dochodzi do wytwarzania keratyny 6 i 16. Błaszczkowate ziarnistości uważane są za pierwszy przejaw keratynizacji. Uwolnione tłuszcze pokrywają naskórek, tworząc ochronną powłokę. Warstwa podstawna i warstwa kolczysta to warstwy żywe, tworzące łącznie warstwę rozrodczą, inaczej zwaną strefą Malpighiego. Od chwili opuszczenia przez keratynocyty warstwy podstawnej do upływu ok. 14 dni, przejście przez warstwę rogową do chwili złuszczenia zajmuje kolejne 14 dni [5].

Warstwa ziarnista (*stratum granulosum*)

Na poziomie warstwy ziarnistej następuje przetwarzanie podstawowych cząsteczek, odpowiedzialnych za charakter fizykochemiczny warstw wyższych, z tworzeniem ziaren keratohialiny i pojawianie się ciałek Odlanda [5]. Konwersja prekursorowej profilagryny do filagryny zachodzi przy udziale proteaz, podczas przekształcania się komórki „ziarnistej” w keratynocyt zrogowaciały. Ciałka Odlanda lub keratynosomy mMCG (ang. membrane coating granules) produkują lipidy, a podczas ich uwalniania tworzą spoiwo międzykomórkowe warstwy rogowej. W warstwie ziarnistej znajdują się komórki żywe wraz z jądrem. Podczas keratynizacji spłaszczają się, tracą jądro i przekształcają się w korneocyty, tworząc warstwę rogową [6].

Warstwa rogowa (*stratum corneum* - SC)

Warstwa rogowa to najbardziej zewnętrzna warstwa skóry o przeciętnej grubości 15 warstw komórek, tworzona przez zbitą masę komórek, które utraciły jądra i ziarnistości. Pokryta jest białkowym materiałem, który pomaga tworzyć barierę, zapobiegającą utracie wody i absorpcji niepożądanych substancji. Składa się z trzech warstw: jasnej - obecnej tylko na zagłębieniu dłoni i na piętach, zbitej, która jest właściwą warstwą rogową oraz rozłącznej ulegającej złuszczeniu. Te trzy warstwy mają grubość 10-20µm. Właściwości warstwy rogowej i skład biochemiczny całkowicie różnią się od warstw położonych niżej. Zawierają mieszaninę substancji, mniej lub bardziej higroskopijnych, zapewniających wiązanie wody. Korneocyty nie zawierają organelli, a łączące je spoiwo ma charakter lipidowy. Warstwa ta składa się z mieszaniny kwasów tłuszczowych wielonienasyconych, cholesterolu i ceramidów. W tym stadium desmosomy są przekształcane w korneosomy. Zjawisko złuszczenia jest regulowane w szczególny sposób, przez przyleganie między korneocytami, które zależy od spoiwa lipidowego i obecności korneodesmosomów. Warstwa rogowa składa się z bogatych w białka korneocytów, zatopionych w dwuwarstwowej macierzy lipidowej. Komórki warstwy średnio zrogowaciałej zawierają najwięcej aminokwasów i mają dużą zdolność wiązania wody. Jedną z funkcji SC jest zapobieganie przesnaskórkowej utracie wody TEWL (ang. transepidermal water loss). Aminokwasy i ich metabolity, będące produktami ubocznymi degradacji filagryny, tworzą naturalny czynnik nawilżający NMF (ang. natural moisturizing factor) i zewnątrzkomórkowo położone lipidy, uwolnione do macierzy przez ziarnistości blaszkowate, odgrywają rolę w nawilżeniu. Całkowite przejście z warstwy ziarnistej do rogowej wiąże się z utratą ok 50-80 % suchej masy. Warstwy komórek zrogowaciałych dostarczają mechanicznej ochrony i są barierą dla utraty wody [5].

1.1.1. Komórki naskórka

Poza korneocytami w obrębie skóry znajdują się również inne komórki. Melanocyty, znajdujące się pomiędzy keratynocytami w warstwie podstawnej naskórka, produkują barwnik melaninę, która następnie przekazywana jest keratynocytom na drodze transportu międzykomórkowego. Komórki Merkla znajdują się w warstwie podstawnej i są mechanoreceptorami odbierającymi wrażenia dotyku i ucisku. Stanowią 1% komórek naskórkowych, są receptorami, a ich wypustki cytoplazmatyczne przenikają między keratynocytami [6]. W warstwie podstawnej znajdują się melanocyty, komórki dendrytyczne wprowadzające wypustki między keratynosomami i przekazują im ziarnistości zwane melanosomami, w których dokonuje się synteza melaniny.

Komórki Langerhansa, mają zdolność jego opuszczenia i przechodzenia do skóry właściwej (odp. zapalna i rumień). Obecne w warstwie kolczystej, są potomkami hematopoetycznych komórek macierzy szpiku kostnego, biorące udział w skórnych reakcjach immunologicznych [7]. Warstwa rogowa stanowi barierę ochronną przed środkami chemicznymi, wirusami, bakteriami, jest rezerwuarem substancji tłuszczowych, odbija szkodliwe promieniowanie UV. Jeżeli jej struktura jest nienaruszona, stanowi prawie nieprzenikalną barierę. Uczestniczy aktywnie w procesach nawilżania, które mają dominującą rolę w remodelingu skóry. Korneocyty (ok. 4 μm średnicy i 0,1 μm grubości) składają się niemal wyłącznie z keratyny, nakładając się dachówkowato na siebie. Za efekt bariery odpowiedzialne są tłuszcze, struktura anatomiczna, uniemożliwiając przenikanie przez skórę i spowalniając dyfuzję wody z głębszych warstw [6].

1.1.2. Budowa bariery naskórkowej

Funkcję bariery fizykochemicznej pełni naskórek, a zwłaszcza jego warstwa rogowa. Ma ona właściwości i skład biochemiczny całkowicie różny od niżej położonych warstw naskórka. Właściwa bariera naskórkowa zostaje wytworzona w prawidłowym procesie rogowacenia komórek naskórka, podczas przechodzenia keratynocytów z warstwy podstawnej do warstwy rogowej. Warstwa rogowa składa się z terminalnie zróżnicowanych komórek, zwanych korneocytami, a także z lipidów, wydzielanych przez ciała lamelarne. Korneocyty, które ją tworzą, to komórki martwe, pozbawione jądra i zbudowane niemal wyłącznie z keratyny. Budową warstwa rogowa przypomina mur, cegłami są korneocyty, zaprawą zaś macierz (ang. brick and mortar organization) [8]. Właściwości barierowe zależą od białek warstwy rogowej oraz lipidów wypełniających przestrzenie międzykomórkowe. Wewnątrz korneocytu znajdują się cytokeratyny, filagryna, w ich otoczkach lorykryna, inwolukryna i kornifina, a w desmosomach białka błonowe. Tworzą one kompleks o właściwościach osmotycznych, spełniający funkcję naturalnego czynnika nawilżającego (NMF). Rola lipidów natomiast polega na izolacji i utrzymaniu wody wewnątrz korneocytu. Występujące w obrębie warstwy rogowej białka są wynikiem różnicowania pozostałych warstw naskórka. W warstwie podstawnej występuje cytokeratyna 5 i 14, w warstwie kolczystej 1 i 10, a w ziarnistej kornifina, lorykryna, inwolukryna i filagryna, które stanowią terminalne markery różnicowania się keratynocytów. Cytokeratyny i filagryna stanowią od 80-90% proteinowej masy naskórka [9]. Filagryna, lorykryna oraz inwolukryna, w wyniku aktywności enzymatycznej transglutaminazy 1, wbudowywane są w otoczkę zrogowaciałą komórek CE (ang. cornified cell envelop) [10].

Ma ona grubość ok.15nm, złożona jest z otoczki proteinowej i otoczki lipidowej komórek CLE (ang. cornified lipid envelop). Otoczka lipidowa zbudowana z ω hydroksyceramidów tworzy powłokę otoczki proteinowej i spaja zrogowaciałe komórki z międzykomórkowymi lipidami [11].

Rola otoczki zrogowaciałej polega na izolacji korneocytów od świata zewnętrznego, osłania NMF i kompleks cytokeratynowo - filagrynowy, co przyczynia się do zatrzymania wody w jego obrębie. W warstwie kolczystej wytwarzane są ciała lamelarne LB (ang. lamellar bodies), dawniej zwane ciałkami Odlanda. Zbudowane są one z blaszek zawierających lipidy oraz enzymów katabolicznych, produkowanych przez aparaty Golgiego. Lipidy zamknięte w LB uwalniane są poza komórką do przestrzeni zewnątrzkomórkowych i tworzą spoiwo międzykomórkowe warstwy rogowej, podczas końcowej fazy procesu rogowacenia [12,13,14].

W górnej części warstwy ziarnistej wydzielane są lipidy polarne, które poprzez system kanalików, transportowane są do przestrzeni zewnątrzkomórkowych na granicy warstwy ziarnistej i rogowej. W przestrzeniach międzykomórkowych lipidy polarne są enzymatycznie przekształcane w lipidy niepolarne, czyli nierozpuszczalne w wodzie. Hydroliza glikosfingolipidów prowadzi do powstania ceramidów, a fosfolipidy przekształcane są w wolne kwasy tłuszczowe. Lipidy niepolarne odkładają się w przestrzeniach między korneocytami, gdzie tworzą pokłady w obrębie warstwy rogowej, które są nieprzepuszczalne dla substancji zewnątrzpo pochodnych. Odgrywają one rolę w magazynowaniu wody w naskórku, a także zapobiegają jej utracie. Odpowiedzialne są również za funkcjonowanie skóry, jako bariery dla wnikania wody wraz z rozpuszczalnymi w niej substancjami. Bariera naskórkowa pozwala, więc na przenikanie związków jednocześnie rozpuszczalnych zarówno w wodzie, jak i lipidach [15].

Dla prawidłowej budowy bariery naskórkowej ważny jest skład lipidów substancji międzykomórkowej. Obecne są także lipidy, z których najważniejszy jest siarczan cholesterolu, który stabilizuje lipidy warstwy rogowej i zapobiega nadmiernemu złuszczeniu naskórka, poprzez hamowanie nadmiernej aktywności proteaz uszkadzających połączenia korneodesmosomalne [16].

Ceramidy stanowią bardzo ważny element budowy bariery naskórkowej, pełnią one funkcję swoistych przekaźników międzykomórkowych, biorą udział w regulacji procesów wzrostu i różnicowania keratynocytów oraz ich wzajemnego przylegania. Niedobory w jednej z trzech głównych klas lipidów warstwy rogowej skutkują wzrostem TEWL, przeznaskórkową utratą wody oraz wzmożoną proliferacją naskórka [17].

1.1.3. Proces keratynizacji naskórka

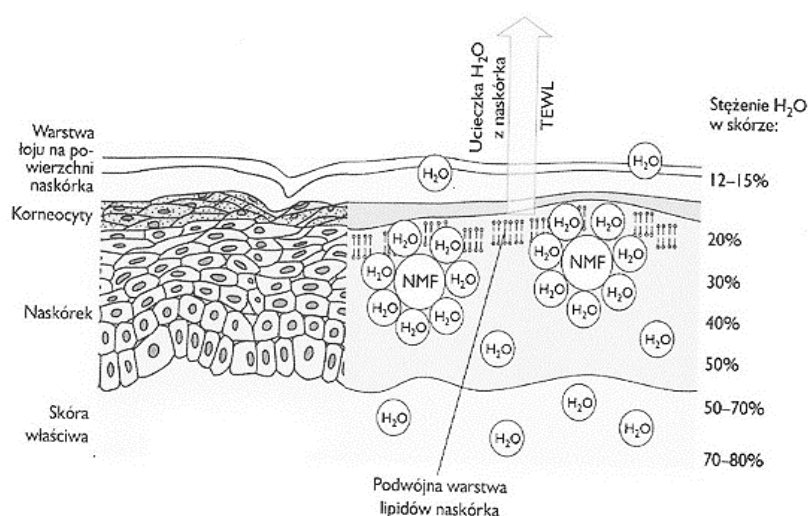
Proces keratynizacji rozpoczyna się w warstwie podstawnej, gdzie następuje podział komórek, które przemieszczają się ku powierzchni, ulegając złuszczeniu. Seria zdarzeń przebiega w sposób niewidoczny i polega na złuszczeniu pojedynczych komórek lub ich grup. Na proces keratynizacji składają się dwa równoczesne zjawiska; pionowa migracja komórek oraz ich różnicowanie się. Dzięki zmianie kształtu i polaryzacji komórka przechodzi z warstwy podstawnej do rogowej, proces ten nazywany jest TOT (ang. turn over time). Dzienna ilość złuszczonego naskórka wynosi 6-14g, rozległe patologiczne złuszczenie może spowodować zubożenie ustroju w białko. Istnieją dwa rodzaje filamentów keratynowych: typu kwasowego i zasadowego. Keratynocyty powstają przy podstawie naskórka, przy połączeniu skórno-naskórkowym DEJ (ang. dermo-epidermal junction) gdzie są wytwarzane przez komórki pnia, zwane podstawnymi. Keratyna naskórkowa, utworzona w trakcie tego procesu jest miękka i występuje w postaci wiązek włókien. Zaburzenia tego procesu mogą skutkować nagromadzeniem częściowo odłączonych keratynocytów, co klinicznie odpowiada suchej skórze. Cykl komórkowy wydłuża się wraz z wiekiem, komórki powierzchniowej warstwy rogowej są starsze i ich funkcja może zostać uszkodzona. Retinol i alfahydroksykwas przyspieszają cykl komórkowy, uwalniając keratynocyty do SC [5].

1.1.4. Regulacja proliferacji, czynniki wzrostu naskórka

Procesy proliferacji i różnicowania keratynocytów podlegają złożonej regulacji, co widoczne jest w przypadku schorzeń związanych z mutacjami genów. Zmiany w ekspresji genów w przebiegu nabytych schorzeń naskórka prowadzą do zaburzeń proliferacji i różnicowania keratynocytów. Proliferację tych komórek wzmacnia TGF- α (ang. transforming growth factor alpha), naskórkowy czynnik wzrostowy EGF (ang. epidermal growth factor), czynnik wzrostu keratynocytów KGF (ang. keratinocyte growth factor). Czynniki wzrostu można podzielić na dwie grupy: namnażające (zwiększające produkcję DNA), oraz różnicujące (hamujące produkcję DNA, co powoduje różnicowanie keratynocytów). Czynniki wzrostu naskórka EGF jest jedną z chemokin, niezbędnych w regulacji wzrostu komórek ludzkich i ma właściwości proliferacyjne. KGF zwiększa syntezę kwasu hialuronowego w keratynocytach. Połączenie pomiędzy naskórkiem a skórą właściwą (DEJ) usytuowane pod warstwą podstawną składa się z błony podstawnej i glikoprotein, kolagenu typu IV, fibronektyn (rycina 3). Warstwa podstawna wraz z granicą skórno-naskórkową ma układ falisty, charakterystyczny dla skóry młodej. W procesie starzenia granica skórno-naskórkowa spłaszcza się, co w konsekwencji prowadzi do wiotczenia skóry [5].

1.1.5. Kinetyka przelnaskórkowa wody, poziom nawilżenia

Woda w organizmie stanowi 60%, u dzieci 80% masy ciała i odpowiada m.in. za transport substancji odżywczych, usuwanie toksyn, regulacje temperatury. Tracona jest w procesach wydalania, oddychania (ok.500ml/dobę), przez skórę (ok.300ml/dobę). Prawidłowo nawilżona skóra zawiera 20% wody, znajdującej się w ustroju, z czego 60% gromadzi się w skórze właściwej, reszta w tkance podskórnej i naskórku. Im bliżej warstwy rogowej, tym silniej woda odparowuje. Zawartość wody w naskórku zależy od wypadkowej sił dwóch procesów: odparowywania wody z naskórka do środowiska i procesu odwrotnego, warunkowanego zdolnością naskórka do zahamowania ucieczki wody. Zdolność naskórka do zatrzymania wody zależy przede wszystkim od właściwości bariery ochronnej, a także prawidłowego przebiegu procesów rogowacenia i zdolności naskórka do produkcji NMF [8]. Zawartość wody w skórze maleje w miarę przesuwania się komórek ku powierzchni. Do wody ulegającej migracji zalicza się wodę w obrębie warstwy rogowej, pochodzącą z warstw głębszych. Inny rodzaj wody stanowi woda nieulegająca migracji, która jest silnie związana z cząsteczkami biologicznymi. Skóra właściwa zawiera proteoglikany, zatrzymujące duże ilości wody, decydując o stopniu nawilżenia naskórka. W wyniku różnicy ciśnień osmotycznych woda przechodzi przez naskórek, nawilżając go i odparowując. Ustala się stały przepływ wody, średnio 5g/m²/h. Przy 8-10g/m²/h skóra jest dobrze uwodniona, przy 3g/m²/h niedostatecznie uwodniona, pojawia się sucha warstwa rogowa. Poziom nawilżenia jest uwarunkowany równowagą między dyfuzją a wyparowaniem, wartością przepływu oraz zdolnością zatrzymywania wody przez warstwę rogową. Przy przepływie wody 5g/m²/h utrata wynosi od 300-400ml w ciągu doby. Woda uzupełniana jest w wyniku mechanizmu dyfuzji, dlatego powinno się, mówić o przepływie, a nie o jej utracie. Proces ten określa się mianem przelnaskórkowej utraty wody TEWL [18] (rycina 2).



Rycina 2. Kierunek przepływu wody przez skórę [2]

1.1.6. Naturalny czynnik nawilżający NMF

Mechanizmem chroniącym przed odwodnieniem naskórka jest naturalny czynnik nawilżający NMF, który powstaje w procesie rogowacenia naskórka, a poprzez wiązanie wody chroni skórę przed odwodnieniem. Pozwala on zatrzymać wodę, przechodzącą przez warstwy komórek podczas dyfuzji. Główną funkcją warstwy rogowej jest zapobieganie przesnaskórkowej utracie wody i regulowanie równowagi wodnej skóry dzięki lipidom i NMF, który wydzielany przez ziarnistości blaszkowate występuje wewnątrz komórek warstwy rogowej, jego skład przedstawiono poniżej (tabela 1).

Tabela 1. Skład naturalnego czynnika nawilżającego NMF [1]

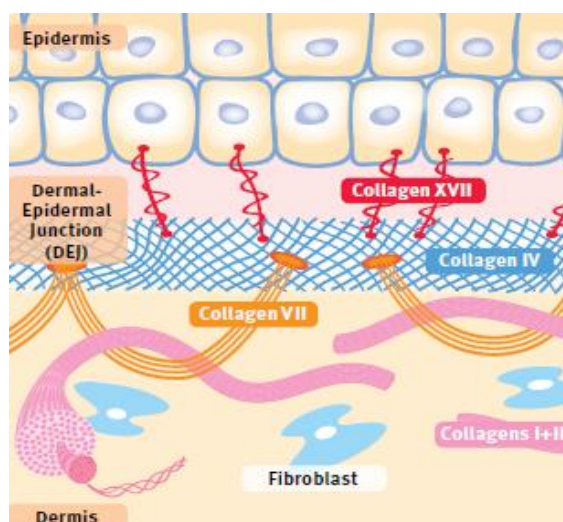
Kwasy organiczne (21,12%)	Wolne aminokwasy (64,60%)
kwas cytrynowy (0,12%)	alanina (4,6%)
kwas mlekowy (9,8%)	arginina (2,2%)
kwas mrówkowy (0,0001%)	kwas asparaginowy (3,9%)
kwas pirolidonokarboksylowy (11,2%)	cytrulina (7,85)
	kwas glutaminowy (1,8%)
	kwas urokainowy (3,4%)
Cukry i polisacharydy (1,86%)	glicyna (5,3%)
glukozamina (0,16 %)	histydyna (5,2%)
glukoza (1,3%)	leucyna (2,5%)
glikogen (0,1%)	lizyna (1,4%)
Inne substancje zawierające azot (3,62%)	ornityna (1,5%)
mocznik (3,36%)	fenyloalanina (1,2%)
kwas moczowy (0,18%)	prolina (1,2%)
kreatynina (0,08%)	seryna (15,3%)
Elektrolity (8,20%)	treonina (3,1%)
Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻ , Mg ²⁺	tryptofan (0,6%)
	tyrozyna (1,9%)
	walina (1,7%)

Składniki te powstają podczas keratynizacji z dezintegracji jąder komórkowych rogowaciejących komórek naskórka. Wiele składników to produkty proteolizy filagryny, białka wchodzące w skład zrogowaciałej otoczki korneocytów. Lipidy chronią NMF tworząc układ ciekłokrystaliczny, który pokrywa zrogowaciałe korneocyty. Brak NMF manifestuje się ciężką suchością skóry (rybia łuska). Kwas hialuronowy HA (ang. hialuron acid) wiąże wodę w stosunku 1:1000, ale nie jest możliwe wprowadzenie go w warstwy skóry w formie kremu, ponieważ ma za dużą cząsteczkę. Kolagen i elastyna zachowują swoją strukturę przestrzenną jedynie w stanie uwodnionym, w sytuacji, gdy pomiędzy tworzącymi je łańcuchami peptydowymi znajdują się cząsteczki wody. Zmniejszenie ilości wody w proteinach powoduje zmianę ich struktury i własności fizycznych. Ponowne nawilżenie przywraca normalne rozmieszczenie i kształt łańcuchów peptydowych. Bogata w glikozaaminoglikany macierz skóry właściwej stanowi rezerwuuar wody, gwarantujący sprężystość i elastyczność protein fibrylarnych (kolagenu i elastyny).

Skóra sucha charakteryzuje się nierówną powierzchnią wynikającą z nagromadzenia na powierzchni naskórka komórek suchej warstwy zrogowaciałej. Ich brzegi pokrywają się łuskami złuszczonego naskórka. W linii pogłębionych poletek powstają z czasem powierzchowne zmarszczki. Osoby ze skórą suchą mają zwykle cieńszy naskórek, cieńszą warstwę kolczystą, która jest słabiej przepuszczalna dla światła i w rezultacie decyduje o jej odcieniu. W miejscach dużych napięć mechanicznych nieelastyczny, kruchy naskórek może pękać, występuje intensywne napięcie, ściąganie skóry oraz uczucie świądu. Skłonność do suchości może być związana z dysfunkcją naskórkową, polegającą na zmniejszonym wytwarzaniu składników NMF [3].

1.2. Skóra właściwa

Skóra właściwa położona jest pomiędzy naskórkiem a tkanką tłuszczową, zbudowana jest z dwóch warstw. Warstwa brodawkowata (*stratum papillare*) oddzielona jest od naskórka przez faliście przebiegającą błonę podstawną. W obszarze tym obecne są włókna kolagenowe typu I i typu III (rycina 3) poprzerplatane włóknami sprężystymi. Głębiej znajduje się warstwa siateczkowata (*stratum reticulare*) z rozciągliwymi, biegnącymi równolegle pasmami włókien kolagenowych oraz włókien elastynowych.



Rycina 3. Granica skórno - naskórkowa [3]

Wszystkie elementy strukturalne zatopione są w podłożu zbudowanym głównie, z wiążącego wodę, kwasu hialuronowego i proteoglikanów. Obecne są tu fibroblasty, wynaczone leukocyty, limfocyty T, komórki tuczne i makrofagi. W obrębie warstwy siateczkowatej znajdują się korzenie włosów, wydzielnicze części gruczołów łojowych i potowych, które mogą sięgać aż do tkanki podskórnej. Znajdują się w niej nerwy, naczynia krwionośne i gruczoły potowe. Wraz z wiekiem spada jej grubość i nawilżenie [5].

1.2.1. Włókna elastynowe w skórze właściwej

Skóra właściwa zawiera 70% kolagenu i tylko 4% elastyny, białka helikoidalnego, produkowanego przez fibroblasty w tym samym czasie, co kolagen. W początkowej fazie powstaje proelastyna, która następnie przekształca się w tropoelastynę. Elastyna łączy się z glikoproteinami i tworzy włókno elastynowe. Włókna te są krótkie, oplatają włókna kolagenowe, po rozciągnięciu mają zdolność powrotu do kształtu wyjściowego, absorbują wodę. Przebiegają faliście, są grubsze w głębszych warstwach, przebiegają równolegle do naskórka. Reprezentują jeden z istotniejszych składników w macierzy wewnątrzkomórkowej tkanki łącznej. Elastyna powstaje z prekursora tropoelastyny w fibroblastach, oraz w komórkach śródbłonka. W przeciwieństwie do włókien kolagenu, włókna elastyny są obecne w różnych etapach dojrzałości. Mniej dojrzałe zwane oksytalanem, biegną prostopadle do DEJ w kierunku górnej części warstwy siateczkowatej skóry. Dojrzałe włókna elastynowe, przyczepiają się horyzontalnie do splotu włókien w warstwie siateczkowatej skóry właściwej. Domeny hydrofobowe, bogate w prolinę, walinę i glicynę są odpowiedzialne za jej elastyczność. Kolagen, kwas hialuronowy i elastyna wiążą się kowalentnie, tworząc trójwymiarową strukturę. Produkcja elastyny *de novo* nie odbywa się w wieku dorosłym. Elastyna wchodzi w interakcje z kolagenem i kwasem hialuronowym [5]. Znajdują się w niej specyficzne aminokwasy, znakujące elastynę, które nadają elastynie właściwości mechaniczne. Wychwytyją one cząstki wody, tworząc żel, pełniący funkcję zbiornika wodnego dla skóry. Znaczenie mają fibrocyty i fibroblasty, produkujące kolagen, elastynę oraz enzym kolagenazę stromieliznę [6].

1.2.2. Włókna kolagenowe w skórze właściwej

Kolagen stanowi 25% wszystkich białek, jest głównym składnikiem tkanki łącznej, występuje w ścięgnach, kościach, rogówce oka, błonach organizmu człowieka. Około 40% kolagenu znajduje się w skórze właściwej. Kolagen obumiera ale jednocześnie jest wytwarzany przez chondrocyty, fibroblasty a jego formy proste, także przez keratynocyty. Jest białkiem silnie hydrofilnym, posiadającym dużą ilość kwasowych, zasadowych i uwodnionych reszt aminokwasowych. Prekursorem powstawania kolagenu jest sekwencja aminokwasowa, rozbudowująca się o grupy aminowe i karboksylowe. W postaci trzeciorzędowej kolagen może zostać przeniesiony do roztworu wodnego, natomiast w postaci fibrylarniej nie poddaje się już hydratacji i jest nierozpuszczalny. Kolagen ztraca zdolność wiązania wody, na skutek usieciowania, zwłaszcza podczas starzenia organizmu. Wspólną cechą strukturalną kolagenów jest obecność potrójnej spirali (superhelisy), której zawartość waha się od 96% w kolagenie typu I do ok. 10% w kolagenie typu XII.

Prawoskrętna potrójna helisa tropokolagenu składa się z trzech lewoskrętnych łańcuchów polipeptydowych (łańcuchy α), ma długość 300nm i średnicę 1,5nm. Na obu końcach struktury znajdują się telopeptydy odpowiedzialne za immunogenność białka [19]. Łańcuchy zawierają hydroksyprolinę, która jest charakterystycznym markerem kolagenu. Niezależnie od swojego pochodzenia zawiera 19 aminokwasów, w tym hydroksyprolinę, niewystępującą w innych białkach. Jego nietypowy skład aminokwasowy wynika z dużej zawartości glicyny i proliny, przy jednoczesnym braku cysteiny i tryptofanu (za wyjątkiem kolagenu III). Cechą kolagenu jest regularność rozmieszczenia aminokwasów, w każdym z jego α łańcuchów. Łańcuchy te składają się z regularnych triad aminokwasów Gly-X-Y, gdzie Gly to glicyna, a X i Y to inne aminokwasy. Na ogół X to prolina, Y to hydroksyprolina. Głównymi aminokwasami są prolina, arginina, lizyna, co trzeci aminokwas w łańcuchu stanowi glicyna. Jest syntetyzowany przez enzymy w formie prekursora zwanego prokolagenem. Prolina w łańcuchu prokolagenu zostaje przekształcona w hydroksyprolinę, przez enzym hydroksylazę proliny. Ta reakcja wymaga obecności jonów Fe^{++} , kwasu askorbinowego i α -ketoglutaranu. Potrójna helisa jest stabilizowana dzięki obecności glicyny, dużej zawartości proliny oraz hydroksyproliny tworzących wiązania wodorowe oraz dzięki oddziaływaniom elektrostatycznym między lizyną i kwasem asparaginowym [20,21,22]. Elastyczność potrójnej helisy zapewniają zaburzenia w powtórzeniach Gly-X-Y oraz w budowie łańcuchów. Glikacja kolagenu i macierzy zewnątrzkomórkowej ECM (ang. extracellular matrix) odgrywa ważną rolę w procesie starzenia się. Produkt tego procesu przechodzi proces utleniania, tworzą się zaawansowane produkty finalne glikacji AGE (ang. advanced glycation end products). Nadrodzina kolagenu u kręgowców liczy 29 typów, zbudowanych z 46 różnych łańcuchów polipeptydowych, w który zaangażowane są metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej MMP (ang. matrix metalloproteinase) [23]. Fibroblasty wydzielają kolagenazę I (MMP-1), która jest istotna w odnowie kolagenu. Cząsteczki kolagenu rozpadają się do wielkocząsteczkowych produktów, cięte są przez nieswoiste enzymy proteolityczne na peptydy i aminokwasy. Z upływem czasu ilość AGE rośnie, kumuluje się na włóknach kolagenu i elastyny przyczyniając do starzenia się skóry. W rezultacie glikacji sieci kolagenowe tracą zdolność kurczenia się, stają się sztywniejsze i odporne na remodeling. Fibroblasty, dzięki aktynowemu cytoszkieletowi, są kluczowym elementem mechanizmu kurczenia się kolagenu przez wywieranie siły kurczącej na sieć kolagenową. Glikowany kolagen zmniejsza ilość kolagenazy I, prowadząc do mniejszego remodelowania tkankowego [5]. Kolagen jest syntetyzowany przez fibroblasty w dwóch fazach.

W fazie wewnątrzkomórkowej w trakcie, której tworzą się łańcuchy białkowe, drogą enzymatyczną dochodzi do hydroksylacji lizyny, proliny i tworzenia prokolagenu, oraz w fazie pozakomórkowej, w której cząsteczki tropokolagenu opuszczają fibroblast i łączą się ze sobą, aby utworzyć włókna kolagenowe. Cząsteczki tropokolagenu mają części liniowe oraz terminalne (teloptydy), które służą do utrzymywania spójności łańcuchów spiralnych. Kolagen naturalny (tropokolagen) rozpuszczalny w kwasach, stanowi 20% kolagenu rozpuszczalnego skóry. Dominującą formą kolagenu (85-90%) w skórze jest kolagen typu I, który stanowi włóknistą podporę skóry. Kolagen typu III (15%), oplata włókna zbudowane z kolagenu typu I i odpowiada za ich ułożenie oraz sprężystość skóry [24,25].

Kolagen typu I obecny jest w trakcie zablizniania ran, ścięgnach, tkance łącznej kości, skórze, tkance podskórnej. Nie ma właściwości pochłaniania wody, tworzy masę grubych włókien, odgrywając funkcje podporowe skóry właściwej. Odpowiedzialny jest za wytrzymałość, w młodej skórze pomiędzy kolagenem typu I a kolagenem typu III występuje proporcja 4:1.

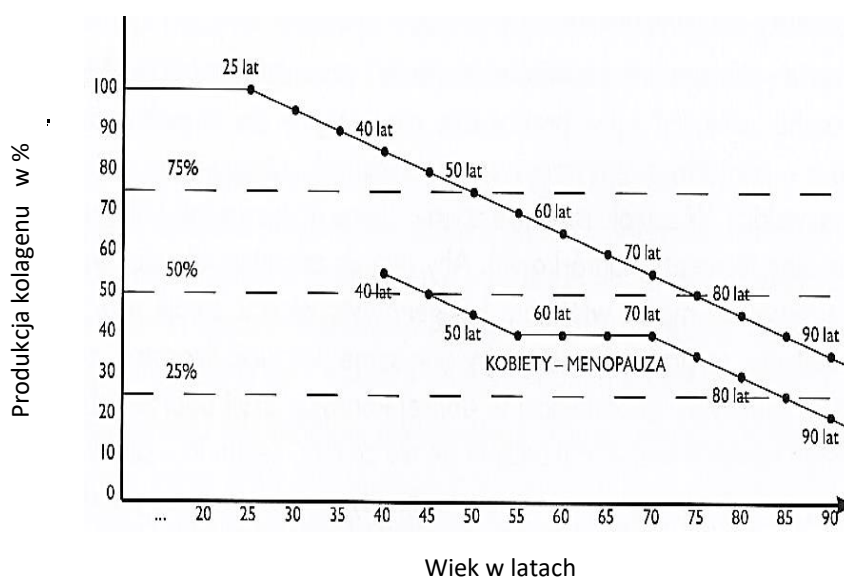
Kolagen typu III występuje w tkance tworzącej się z fibroblastów, w skórze płodu i w trakcie zablizniania ran, tworzy tkankę łączną siateczkowatą, buduje głównie włókna kolagenowe u dzieci i osób młodych. Nadaje skórze elastyczność, jędrność, jest zdolny do pochłaniania wody i odpowiada za nawilżenie skóry. Jego cząsteczka ma mniejszą średnicę niż kolagen typu I, tworzy wiązki, pozwalając na odkształcalność, zwany „kolagenem płodowym”, występuje wokół naczyń krwionośnych i pod naskórkiem (tabela 2).

Tabela 2. Główne typy włókien kolagenowych w skórze właściwej człowieka [2]

Typ	Inna nazwa	Występowanie	Funkcja	% w skórze właściwej	Powiązane choroby
I		skóra, kości, ścięgna	wytrzymałość	80	
III	płodowy	skóra właściwa, naczynia	odkształcalność	15	
IV		błony podstawne	tworzy siatkę	4-5	nabyte oraz dystroficzne pęcherzowe oddzielenie się naskórka,
V		skóra właściwa	nieznana		
VII		włókna kotwiczące	stabilizuje DEJ		
XVII	BPAG2 BP180	hemidesmosomy			pemfigoid ciężarnych pemfigoid pęcherzowy

Włókna istotne w kosmetologii to włókna kolagenowe typu IV, formującego strukturalną sieć kolagenową w strefie błony podstawnej, oraz typu V rozproszonego w skórze właściwej i stanowiąc 5% macierzy. Kolagen VII tworzy włókna kotwiczące w połączeniach skórno-naskórkowych. Ubytek tego kolagenu, u osób ekspozowanych na UV, skutkuje dużą urażalnością skóry w wieku starszym. Osłabione wiązanie pomiędzy skórą a naskórkiem, spowodowane utratą kolagenu, prowadzi do powstawania zmarszczek (większa utrata kolagenu w dolnej części).

Parametry krytyczne włókien kolagenowych, takie jak: gęstość, upakowanie i orientacja wpływają na właściwości tkanek: kości, chrząstek, ścięgien czy skóry, w których kolagen stanowi białko strukturalne. Ze względu na wysoką masę cząsteczkową kolagen nie ma możliwości penetrowania przez naskórek, działa na powierzchni ograniczając transepidermalną utratę wody. Przenikanie jest ułatwione przy wielkościach od 500 do 1000Da [26]. Z wiekiem obniża się tempo syntezy, aktywność enzymów, zmniejsza się rozpuszczalność, a włókna kolagenu ulegają ścięczeniu [27]. Zwiększa się udział ilościowy kolagenu typu III. W skórze ekspozowanej na działanie UV, na skutek aktywności metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej MMP (ang. matrix metalloproteinase), obserwuje się fragmentację, zbijanie się w konglomeraty [18]. Oprócz zwiększonej fragmentacji i degradacji, obserwuje się zaburzenia czynności fibroblastów, czego skutkiem jest spowolnienie syntezy. Zmniejszona biosynteza, przy zwiększonej degradacji, może być przyczyną zaniku skóry (atrofii) i słabego gojenia się ran. Oprócz spadku elastyczności obserwuje się redystrybucję podskórnej tkanki tłuszczowej oraz osłabienie mięśni twarzy, czego skutkiem jest pojawienie się zmarszczek. Od 25 r.ż. skóra traci, co roku ok. 1% kolagenu, który jest wymieniany w ilości ok. 3kg rocznie. Poniżej przedstawiono zależność pomiędzy wiekiem a obniżeniem poziomu kolagenu w skórze człowieka (rycina 4).

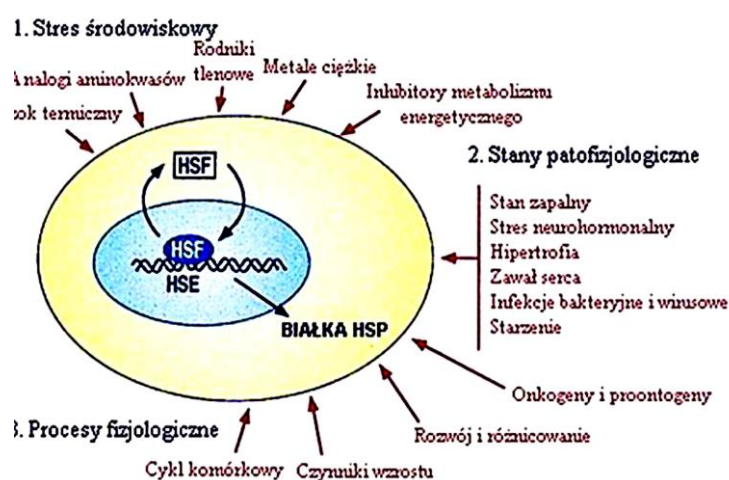


Rycina 4. Schemat obrazujący produkcję kolagenu i wpływ wieku na zmiany jego poziomu u człowieka [4]

Okolo 65 roku życia, gdy zanika aktywność neurohormonalna, więcej włókien ulega degradacji niż jest odtwarzanych. W leczeniu starzenia się skóry dotychczas znalazły zastosowanie retinoidy, które jako antyoksydanty wychwytyują i stabilizują reaktywne formy tlenu, co chroni błony komórkowe przed niszczeniem z następowym uszkodzeniem i rozpadem komórek [28–32].

1.2.3. Białka szoku termicznego HSP

Białka szoku termicznego stanowią efekторы komórkowej odpowiedzi stresowej, biorą udział w procesie formowania prawidłowej struktury białek, które powstają podczas translacji, renaturacji, degradacji białek zdenaturowanych lub białek uszkodzonych przez czynniki stresowe. Kiedy tkanki są ogrzewane do temperatury 44°C-45°C, uszkodzone białka kierowane są do degradacji. Mechanizmy obronne skóry aktywują syntezę kolagenu w fibroblastach, co prowadzi do zwiększenia gęstości i elastyczności skóry. Działają, jako białka opiekuńcze, w procesie formowania prawidłowej ich struktury. Biorą udział w reaktywacji białek po denaturacji oraz zapobiegają tworzeniu się agregatów. Odgrywają rolę w utrzymaniu kształtu komórki, transdukcji sygnału, wiążąc i stabilizując elementy cytoszkieletu. Odpowiadają za tzw. termotolerancję komórek, a następnie regenerację. Przeżywają działanie kolejnego stresu, który inaczej byłby dla nich letalny. Najlepiej poznaną grupą białek szoku termicznego jest grupa HSp70, której przedstawicielami są: białko o masie 72kDa oraz białko o masie 73kDa ulegające ekspresji we wszystkich komórkach i tkankach. Zlokalizowane w świetle retikulum endoplazmatycznego, mają zdolność wiązania się do kolagenu, uważane są za „opiekuna molekularnego” zaangażowanego w dojrzewanie kolagenu [33] (rycina 5).



Rycina 5. Czynniki indukujące ekspresję białek szoku termicznego [5]

1.3. Tkanka podskórna

Tkanka podskórna jest poprzecinana przez drobne, włókniste pasma rozciągające się, silnie łączące warstwę skóry właściwej ze strukturami leżącymi głębiej. Pasma dzielą obszar skóry na przedziały, które zawierają komórki tłuszczowe. Pomiędzy skórą właściwą a tkanką podskórną nie istnieje wyraźne odgraniczenie, granica ta jest wiotka o budowie podobnej do skóry właściwej. Adipocyty nadają tkance podskórnej własności izolacyjne i stanowią zapas energii [5].

2. Starzenie się skóry człowieka

Skóra stanowi doskonały i przystępny model badawczy w odniesieniu do całościowego zjawiska starzenia, które charakteryzuje się zaburzeniami czynnościowymi komórek, zmniejszeniem rezerw komórkowych tkanek oraz pogorszeniem zdolności do pełnienia fizjologicznych funkcji komórkowych. Powstałe zmiany powodują, że organizm jest podatny na uszkodzenia i choroby, w ostateczności doprowadzają do zgonu. Poznanie mechanizmów starzenia się pozwala zrozumieć, jak zapobiegać i przeciwdziałać temu procesowi, który jest regulowany przez czynniki genetyczne, jak i środowiskowe. Za proces ten odpowiada m.in. zespół genów warunkujący podziały komórkowe, procesy naprawy antyoksydacyjnej i DNA oraz obrony immunologicznej. Uszkodzenie DNA czynnikami endogennymi i egzogennymi odgrywa rolę w procesie starzenia [5,6].

2.1. Starzenie wewnątrzpochodne

Istnieją dwie teorie tłumaczące mechanizm zmian zachodzących w komórkach, tkankach i narządach starzejącego się ustroju. Pierwsza z nich - teoria zaprogramowania zakłada, że za starzenie odpowiedzialne są tzw. gerontogeny. Podstawowym zjawiskiem odpowiedzialnym za starzenie typu wewnątrzkomórkowego są zaburzenia odnowy komórek. Komórki somatyczne mają ograniczoną zdolność do podziału, zjawisko to określane jest liczbą Hayflick'a lub starzeniem komórkowym. Fuzja starzejących się komórek z młodymi powoduje u tych ostatnich objawy degeneracyjne. Zjawiskiem hamującym podziały komórek starzejących się, jest zjawisko skracania telomerów oraz zaburzenia apoptozy.

Kolejna - teoria stochastyczna zakłada, że starzenie się komórek i tkanek związane jest z zaburzeniami biochemicznymi, powodującymi upośledzenie ich funkcji takich jak: nadmierne tworzenie rodników tlenowych (uszkodzenie białek i DNA), racemizację aminokwasów, nieenzymatyczną glikozylację (prowadzącą do nieprawidłowego usieciowania włókien kolagenu i innych białek strukturalnych). Jednym z charakterystycznych procesów starzenia wewnątrzkomórkowego w skórze jest spłaszczenie połączeń skórno-naskórkowych. Liczba sopli naskórkowych i brodawek skórnych zmniejsza się u osób starszych o 50%. Zaburzenia bariery naskórkowej związane są ze zmianami jakościowymi i ilościowymi produkowanych lipidów w warstwie rogowej jak i ze zmniejszoną produkcją filagryny, białka korneocytów. Zdolności proliferacyjne keratynocytów ulegają obniżeniu, komórki gorzej odpowiadają na bodźce mitotyczne, a żywe warstwy naskórka ulegają ścięczeniu [2,3].

2.2. Starzenie zewnętrzne

Proces starzenia skóry rozpoczyna się od momentu osiągnięcia dojrzałości i może je przyspieszać promieniowanie ultrafioletowe. Fotoprotekcja rozpoczęta już w dzieciństwie pozwala zmniejszyć objawy starzenia skóry nawet o 80%. Objawami klinicznymi starzenia zewnętrznego są suchość, szorstkość, zmniejszenie elastyczności. Występowanie zmian przednowotworowych, zaburzenia pigmentacji, zmarszczki głębokie, bruzdy, teleangiektazje, wybroczyny, przerost gruczołów łojowych.

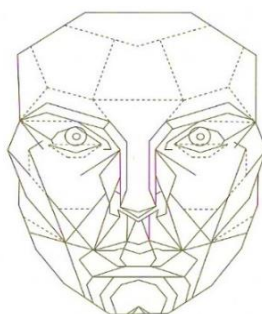
Przykładem histologicznego starzenia zewnętrznego skóry jest elastoza będąca objawem działania promieniowania UV, określającym nagromadzenie w warstwie siateczkowej nieprawidłowych włókien elastynowych [2]. Patologiczne masy amorficznego materiału składają się z nieprawidłowych włókien elastyny i zawierają duże ilości glikozaminoglikanów, proteoglikanów i fibronektyny. W powstawaniu elastozy znaczenie ma zaburzenie syntezy fibryny, odpowiedzialnej za usieciowanie włókien sprężystych. Stwierdza się degradację włókien kolagenowych, związaną z uwalnianiem cytokin, które aktywują enzymy proteolityczne z grupy metaloproteinaz np. kolagenaza. Sieć naczyń krwionośnych ulega zanikowi, dochodzi do zanikania lub poszerzania jego światła (teleangiektazje). Naskórek ulega zgrubieniu i tylko w fazie bardzo zaawansowanej dochodzi do jego ścięnięcia. Widoczne są w nim nieprawidłowe keratynocyty wykazujące tzw. atypię komórkową, co sprzyja skórnej onkogenezie. Pod naskórkiem pojawia się tzw. strefa Grenz'a, miejsce syntezy kolagenu typu I. Fotoprotekcja powoduje, że strefa ta spycha w dół patologiczne masy elastyczne [34].

Określenie photoaging (słoneczne starzenie się skóry), premature aging (przedwczesne starzenie) oraz accelerated aging (przyspieszone starzenie) zostały wprowadzone w fazie badań nad przewlekłym uszkodzeniem skóry, gdy nie rozumiano patogenezę zjawiska. W efekcie „photoaging” utrwalił się w literaturze fachowej i w mowie potocznej, mimo iż posłoneczne przewlekłe uszkodzenie skóry jest w istocie przewlekłym procesem zapalnym, który różni się od procesu starzenia, w sensie klinicznym i histologicznym.

W obrazie klinicznym przedwczesnego starzenia się skóry obserwuje się zmarszczki, bruzdy, przesuszenie, nadmierne rogowacenie naskórka, przebarwienia, teleangiektazje, atrofię z jednoczesnym występowaniem zmian przerostowych, utratę elastyczności, hiperkeratozę ogniskową, pojawienie się cech atypii, uszkodzenie bariery lipidowej oraz zmiany w obrębie komórek Langerhansa. Promieniowanie UVA wzmacnia w obrębie naskórka działanie UVB, powodując uszkodzenie tkanki łącznej [3,5,6].

2.3. Proces starzenia się twarzoczaszki

Atrakcyjność twarzy człowieka zauważalna jest w ułamku sekundy. Platon twierdził, że piękno zamknięte jest w proporcji i wymiarach. Odkrycie liczby ϕ przypisuje się Pitagorasowi, która wynosi w przybliżeniu 1,618. Występuje ona w matematyce, w proporcjach organów zwierząt i roślin. Komputerowy model idealnej twarzy oparty na liczbie ϕ i jej wielokrotnościach stworzył chirurg plastyczny S. Marquardt. Jego złotą maskę (archetypal mask), w postaci geometrycznej siatki, nakłada się na zdjęcie twarzy (rycina 6). Im mniejsze odstępstwa od siatki tym twarz określana jest, jako atrakcyjniejsza.



Rycina 6. Maska Marquardt'a (archetypal mask) [6]

Budowa twarzy ma charakter warstwowy, najgłębiej znajduje się podbudowa kostna, czyli twarzoczaszka, w skład, której wchodzi kość szczękowa, kość jarzmowa, żuchwa oraz kość czołowa i sklepienie czaszki. Okostna to błona ochraniająca kości od zewnątrz, mocno unerwiona (reaktywna przy HIFU, wypełniaczach, mezoterapii igłowej, radiofrekwencji mikroigłowej). Kolejne warstwy to powięzie, wiązadła, mięśnie, tkanka tłuszczowa i skóra, przeplatają się pomiędzy sobą, łączą i krzyżują. Warstwy te nie są strukturami odseparowanymi, są ze sobą połączone. Główną strukturą twarzy są mięśnie mimiczne przyłączone do kości tylko w jednym miejscu, a drugi ich koniec jest przyłączony do skóry. Gdy mięsień się kurczy, ciągnie skórę, a nie kość. Kącik ust podnosi kilka mięśni, ułożonych warstwami. Są oddzielone od siebie, od powięzi, tkanki tłuszczowej i tkanki włóknistej. Skóra na policzku ma 2-3mm grubości, przy ucisku łapiemy mięsień policzkowy, śmiechowy, jarzmowy, obniżający kącik ust, żwacz, tkankę tłuszczową (ok. 15-20ml), powięzie i skórę [1]. Porównując anatomię mięśni twarzy można dostrzec zależność: zmarszczki głębokie powstają prostopadle do osi długiej mięśnia, a fałdy biegną równolegle do mięśni, mięśnie okrężne oczu i ust, linia zmarszczek jest prostopadła do stycznej powierzchni krzywizn. Z wiekiem proporcje twarzy zmieniają się. Świadomość tych procesów jest niezbędna do prawidłowego prowadzenia metod remodelingu skóry twarzy. Przy odpowiednio dobranej procedurze, wywierającej wpływ na tkanki, produkcja powinna przewyższać rozpad [2].

Skóra twarzy jest podzielona na okolice jednorodnie estetyczne, nazywane jednostkami estetycznymi twarzy. Ich wydzielenie wynika z faktu, że zabiegi rekonstrukcyjne powinny być prowadzone niezależnie, w obrębie każdej z nich, bez naruszania okolic sąsiednich. Efektem uszkodzenia naczyń jest krwiak, natomiast zatkanie tętnic, powoduje martwicę. Uszkodzenie nerwów igłą podczas iniekcji, może wywołać zaburzenia czucia, dolegliwości bólowe (neuralgię), problemy z ruchomością. Unaczynienie i unerwienie twarzy obrazuje, że nie ma na niej bezpiecznego miejsca [1] (rycina 7).



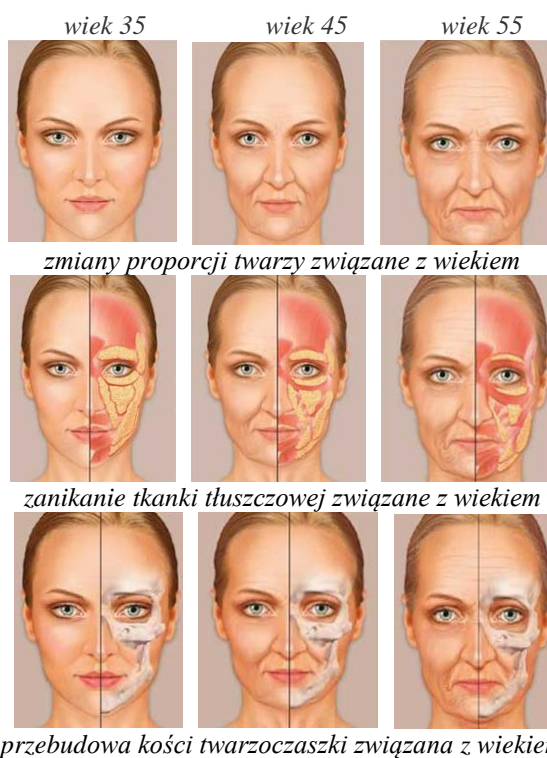
Rycina 7. Unaczynienie i unerwienie skóry twarzy [7]

W chirurgii plastycznej w obrębie twarzy bardzo istotne są linie zmniejszonego napięcia skóry RSTL (ang. relaxed skin tension lines). Nacięcia skóry na twarzy powinny uwzględniać nie tylko naturalne fałdy skórne, ale również w.w. linie. Procesy gojenia przebiegają korzystnie, gdy cięcie prowadzi się równoległe do tych linii. Przebieg ich jest równoległy do przebiegu włókien mięśni wyrazowych (rycina 8).



Rycina 8. Linie zmniejszonego napięcia skórno w obrębie twarzy [8]

Wraz z wiekiem skóra i tkanka podskórna ulegają osłabieniu, stają się podatne na działanie sił grawitacji. Pojawiają się zmarszczki, napięcie powiek ulega osłabieniu, a policzki oraz kąty ust i oczu obniżają się. Proces starzenia się twarzy jest złożony i obejmuje zmiany mięśni mimicznych oraz podłoża kostnego. Podskórna tkanka tłuszczowa, w obrębie twarzy, jest podzielona na przedziały, proces starzenia się tego obszaru anatomicznego należy rozważać, jako serię specyficznych procesów [7] (rycina 9).



Rycina 9. Zmiany konformacyjne tkanek w obrębie twarzy [9]

Zmiany konformacyjne mające miejsce w obrębie twarzy: w wieku ok. 25 lat brwi przemieszczają się w dół poniżej łuku brwiowego, ok. 30 r.ż. lat fałdy nosowo-wargowe pogłębiają się, stają się bardziej widoczne, ok. 40 r.ż. pojawiają się zmarszczki na czole, wokół oczu. U osób po 50 r.ż. zewnętrzne kąci oczu przemieszczają się w dół, nos lekko opada, u 60-70 latków oczy zmniejszają się z powodu powstawania fałdów skórnych, zwiększa się ubytek tkanki tłuszczowej na policzkach i podbródku, a zmniejszające się kości czaszki zwiększają wiotkość skóry [2].

W tkance podskórnej, zbudowanej z włókien tkanki łącznej i tkanki tłuszczowej po 40 roku życia spada aktywność fibroblastów. Przy ich zwiększonym rozkładzie dochodzi do osłabienia naczyń, zwiększonej przepuszczalności i kruchości. Powoduje to ograniczone dostarczanie do komórek składników odżywczych, spowolnienie usuwania toksyn, zaburzenie odprowadzania płynu międzykomórkowego. Brak substancji odżywczych sprawia, że spowolnione procesy komórkowe nie mogą przebiegać prawidłowo [7].

W miarę starzenia się organizmu wzrasta liczba wiązań sieciujących, co powoduje, że struktura skóry staje się sztywna, a kolagen przechodzi w formę nierozpuszczalną. Ilość komórek Langerhansa zmniejsza się o 50%, co skutkuje zmianą odpowiedzi immunologicznej w podeszłym wieku. Zmniejsza się ilość łoju, co skutkuje szybszym wysuszeniem skóry [6].

2.4. Mechanizm powstawania zmarszczek i ich rodzaje

Pojawienie się zmarszczek, początkowo w postaci rowków skórnych, związane jest z wgłębianiem się naskórka w obręb, znajdującej się pod nimi skóry właściwej. W miejscach tych skóra staje się cieńsza. Proces utraty grubości skóry zatrzymuje się w chwili osiągnięcia połowy swojej wyjściowej wartości, następnie skóra ulega zatapianiu się w warstwę tkanki podskórnej, formując zmarszczkę [2].

Wyróżnia się następujące rodzaje zmarszczek:

- zmarszczki mimiczne powstające prostopadle do mięśnia, którego częste skurcze tworzą zagłębienie w skórze. Skurcze mięśni powodują stres mechaniczny włókien kolagenowych i sprężystych w tkance łącznej, a naprężenia przenoszone są na fibroblasty. Powtarzając się, powodują zmiany funkcjonowania fibroblastów w skórze, wokół mięśnia, prowadzą do utrwalenia się zmian. Proces ten określany jest mianem „miostarzenia” i odnosi się do najwcześniejszych zmian klinicznych;

- zmarszczki statyczne powstające, jako utrwalenie się zmarszczek mimicznych wynikających z ugniatania się skóry podczas snu. Uwidaczniają się z wiekiem i postępującym procesem starzenia. Odmianą zmarszczek statycznych są zmarszczki strukturalne – elastotyczne, powstające u osób z dużym uszkodzeniem słonecznym, mają kształt romboidalny, przypominający pogrubione poletka skóry;

- zmarszczki atroficzne są wynikiem, pojawiających się z wiekiem, zmian w fizjologii oraz atrofii skóry. Następuje wyraźne zmniejszenie produkcji kolagenu i elastyny. Dochodzi do spłaszczenia granicy skórno-naskórkowej, co daje efekt szarej i zmęczonej skóry. Pojawiają się głębsze zmarszczki i fałdy, naskórek ulega ścięczeniu, warstwa rogowa staje się grubsza. Skóra jest cienka, wysuszona, szorstka, traci swoją gęstość;

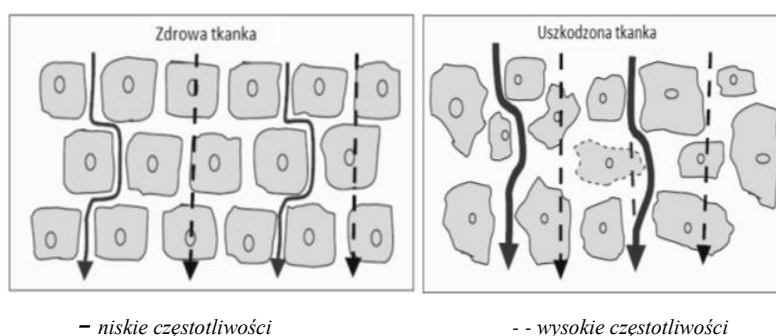
- zmarszczki grawitacyjne powstają wraz z utratą sprężystości skóry i zmianą konturów twarzy. Uszkodzenia skóry powodują utratę elastyczności i zmianę owalu twarzy z tendencją do opadania tkanek, w zgięciach obwisającej skóry wykształcają się nowe zmarszczki [6]. Skórę twarzy, szyi i dekoltu, charakteryzują takie czynniki jak: płeć, rasa, stan zdrowia, tryb życia, klimat, rodzaj wykonywanej pracy, sposobu pielęgnacji. Rodzaj skóry możemy określić według wieku: skóra dziecka 0-10 r.ż., skóra młoda 10-20 r.ż., wczesne lata dojrzałe 20-30 r.ż., skóra dojrzała 30-50 r.ż., powyżej 50 r.ż. skóra długowieczna (od okresu przekwitania do śmierci). Termin skóra dojrzała występuje w polskim języku kosmetycznym, natomiast angielska terminologia posługuje się określeniem „aged skin”. Pierwsze zmiany związane ze starzeniem pojawiają się po 25 r.ż. w przypadku skóry suchej. Cechy wyróżniające skórę dojrzałą związane są z promieniowaniem słonecznym (obserwowanym na eksponowanych obszarach ciała tj. twarz, szyja, dekolt, dłonie) i starzeniem wewnątrzpochodnym (obserwowanym na zasłoniętych obszarach ciała). W skórze dojrzałej występują przebarwienia, odbarwienia, naczyniaki rubinowe, zmarszczki, bruzdy, nieprawidłowe rogowacenie, poszerzenie ujść mieszków włosowych, zaskórniki, naczyniaki gwiaździste, zmiany przednowotworowe i nowotworowe [5] (rycina 10).



Rycina 10. Objawy skóry dojrzałej [8]

3. Instrumentalne metody oceny parametrów biofizycznych skóry

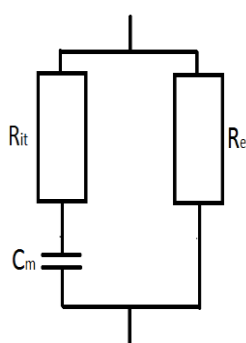
Przegląd piśmiennictwa medycznego wskazuje, że zainteresowanie nieinwazyjnymi metodami oceny skóry utrzymuje się na wysokim poziomie od wielu lat. Są one szeroko stosowane w badaniach naukowych, diagnostyce, monitorowaniu stanu skóry w gabinetach dermatologicznych i kosmetologicznych. Obiektywne badanie skóry bazuje na ocenie parametrów biofizycznych, poprzez standaryzację warunków pomiaru oraz nieinwazyjnego jego charakteru. Dla bezpiecznego ich wykonania konieczne są precyzyjne urządzenia, pozwalające na określenie cech skóry w sposób obiektywny i powtarzalny. Badanie skóry może odbywać się wizualnie (rodzaj, defekty, kolor, powierzchnia: sucha, lśniąca), lub palpacyjnie za pomocą dotyku (gładkość naskórka, elastyczność skóry, napięcie mięśni, grubość podściółki tłuszczowej). Parametry określające rodzaj skóry to: kolor (barwa), rodzaj powierzchni (matowa, sucha, błyszcząca, gładka, szorstka, łuszcząca się), elastyczność skóry, stopień ukrwienia, stopień nawilżenia, ilość wydzieliny łojowej, ujścia mieszków włosowych skóry (zwarte, poszerzone), napięcie mięśni (skóra jędrna, wiotka), defekty (zmiany barwnikowe), zmarszczki, bruzdy, stopień wrażliwości [36,37]. Wyniki badań parametrów skóry powołują się na badania prowadzone przy użyciu metodologii badawczej i urządzeń diagnostycznych. Za miarodajne można uznać wyniki oceniane z perspektywy kilku lat i setek przypadków zastosowań. Oceniając wielkości charakteryzujące stan skóry za pomocą jej parametrów elektrycznych, należy zrozumieć sposób przepływu prądu przez skórę człowieka. Na poziomie komórkowym odpowiada on opisowi przepływu prądu przed tkanki żywe [35,39] (rycina 11).



Rycina 11. Przepływ prądu przez tkankę żywą [11]

Impedancja (łac. *impedimentum*) jest uogólnieniem oporu elektrycznego, charakteryzującą zależność między natężeniem prądu i napięciem w obwodach prądu zmiennego. Część rzeczywista impedancji opisuje opór związany z prądem płynącym w fazie zgodnej z przyłożonym napięciem, część urojona z prądem przesuniętym w fazie związana jest z pojemnością elektryczną tkanki.

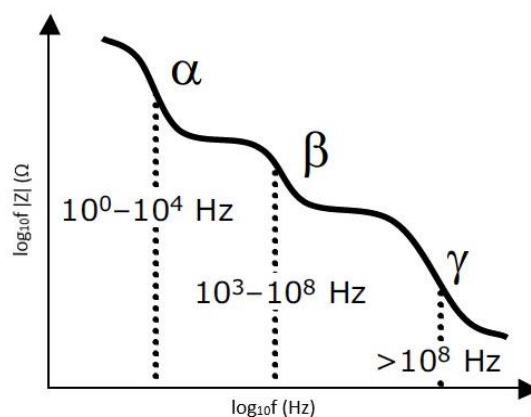
Impedancję żywych tkanek nazywa się bioimpedancją. Elementy ustroju wykazują różną impedancją. Błona komórkowa zachowuje się jak membrana elektrochemiczna, jest półprzepuszczalna i pozwala przenikać niektórym rodzajom jonów, co powoduje, że membrana zachowuje się jak kondensator, a część ładunku zostaje zatrzymana. Środowisko wewnątrz jak i zewnątrzkomórkowe wykazuje rzeczywisty opór elektryczny. Tkanki żywe wykazują pewną rezystancję i pojemność, nie wykazując przy tym indukcyjności. Z właściwości tkanek wynika, że na przepływ prądu zmiennego o niskich częstotliwościach ma wpływ stan środowiska międzykomórkowego, które wykazuje głównie opór rzeczywisty. Na przepływ prądu o wysokich częstotliwościach wpływa przestrzeń międzykomórkowa, wnętrze komórek, stan błony. Impedancja tkanki zależy od częstotliwości prądu. Tkanek żywą można opisać obwodem zastępczym [40] (rycina 12).



*R_{it}, C_m - rezystancja oraz pojemność komórek,
R_e - rezystancja środowiska zewnątrzkomórkowego*

Rycina 12. Podstawowy obwód zastępczy opisujący tkankę żywą [12]

Na wykresie modułu impedancji dla tkanki żywej można wyróżnić trzy regiony, w których wartość tej wielkości maleje wraz ze wzrostem częstotliwości prądu. Przedzielone są one obszarami, w których wartość ta jest stała lub bliska stałej. Rejon obniżenia impedancji powiązane są z właściwościami tkanek i nazywane są obszarami dyspersji impedancji [38] (rycina 13).



Rycina 13. Dyspersja impedancji w tkance żywej [13]

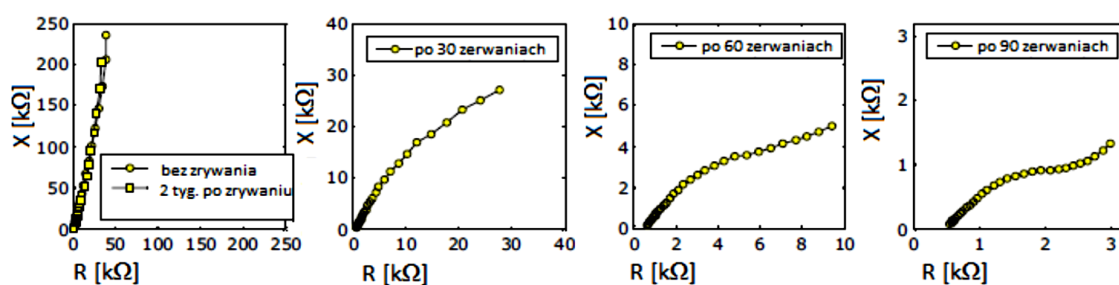
Rejon α -dyspersji; od pojedynczych herców do dziesiątek kiloherców, odpowiada zjawisku polaryzacji chmur jonów w przestrzeni międzykomórkowej, w pobliżu błon komórkowych, zależy od rozmiarów komórek i struktury powierzchniowych ich warstw.

Region β -dyspersji; od kiloherców do setek megaherców, jest powiązany z polaryzacją błon komórkowych oraz zmianami jej struktury.

Rejon γ -dyspersji; od setek megaherców do kilku gigaherców, związane są z polaryzacją międzywarstwową molekuł wody związanej.

Rejon δ -dyspersji; istnieje powyżej tych częstotliwości, odpowiada polaryzacji wody wolnej. Istotne biologicznie informacje niesie ze sobą obszar dyspersji β . Poszczególne regiony opisywane są przy użyciu częstotliwości środkowej obszaru f_o [38].

Wyniki pomiarów impedancji ciała stosuje się do oszacowania procentowej zawartości wody, tłuszczu oraz mięśni w organizmie. Istnieje również tomografia impedancyjna EIT (ang. electrical impedance tomography), wykorzystywana głównie do obrazowania zawartości płynu i gazu w obrębie klatki piersiowej. Impedancja skóry dla niskich częstotliwości prądu ($<1\text{kHz}$), jest zdominowana przez naskórek, natomiast dla wysokich częstotliwości ($>1\text{MHz}$) dominują głębiej położone struktury. Wpływ naskórka pozostaje duży dla częstotliwości rzędu 100kHz , malejąc wraz z jej wzrostem, przy 1MHz nie jest pomijalny. Można go zminimalizować, poprzez przeprowadzenie eksperymentu ze ściąganiem martwej warstwy naskórka przy pomocy taśmy klejącej. Za każdym kolejnym zerwaniem wpływ naskórka na spektrum impedancji jest mniejszy [40] (rycina 14).



Rycina.14. Wykres dla widm impedancji (1,22 kHz do 1 MHz) przed strippingiem taśmy, po 30,60 oraz 90 zerwaniach taśmy [14]

3.1. Pomiar stanu nawodnienia warstwy rogowej naskórka

Jedną z metod pomiaru nawodnienia naskórka jest korneometria, oparta o pomiar pojemności elektrycznej medium dielektrycznego. Zmiany stałej dielektrycznej, związane z hydratacją skóry, zmieniają pojemność elektryczną. Pomiar (1s) może określić nawet bardzo niewielkie zmiany w nawilżeniu skóry. Badana jest zależność między pojemnością elektryczną a zawartością wody w naskórku. Im więcej wody w tkance, tym mniejszy opór elektryczny i przewodzenie prądu.

Wzrost lub zmniejszenie uwodnienia warstwy rogowej, ze względu na stałą dielektryczną wody, powoduje proporcjonalne zmiany pojemności elektrycznej. Budowa urządzenia pozwala wyeliminować błędy pomiarowe, związane z pojemnością bazową skóry i fluktuacjami zasilania. Powierzchnia mierzącej głowicy w kontakcie ze skórą, zmienia swoją elektryczną pojemność zgodnie z poziomem nawilżenia skóry. Pomiar dotyczy głębokości 10-40µm (SC 10-20µm). Jest to ważne w pomiarach nawilżenia naskórka, ponieważ pozwala uniknąć błędów pomiarowych, związanych z wpływem naczyń krwionośnych. Warstwa rogowa spełnia ważną funkcję nawadniającą, potrzebną do utrzymania miękkości skóry, umożliwiając ruchy skóry. Utrata tej funkcji może skutkować suchością, pojawieniem się łusek i pęknięć, które często towarzyszą chorobom skóry [39].

3.2. Pomiar suchości skóry *D-Squame*

Polega na pobraniu z powierzchni skóry próbek za pomocą dysków z poliestrowej folii i zaczepionego do niej przezroczystego plastra (*D-Squame*). Aparat służy do przyciskania dysków do powierzchni skóry pod obciążeniem 800g przez 5s. Po tym czasie odrywa się dysk od powierzchni skóry. Do powierzchni przylepiają się elementy naskórka zbyt luźno związane ze skórą. Ich ilość jest proporcjonalna do stopnia złuszczenia i wysuszenia skóry. Ocena suchości polega na obserwacji próbek pod mikroskopem pola ciemnego, porównaniu ze wzorcem, densytometrii - przepuszczanie światła przez dysk [39].

3.3. Pomiar funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka

Jednym z parametrów, opisujących stan skóry, jest współczynnik przesnaskórkowej utraty wody TEWL. O zjawisku tym mówimy, gdy zostaje zaburzony prawidłowy poziom nawilżenia skóry, uwarunkowany równowagą między dyfuzją a wyparowaniem, wartością przepływu oraz zdolnością do zatrzymywania wody w warstwie rogowej naskórka. Jeżeli równowaga zostaje zaburzona i dochodzi do nadmiernej utraty wody, wówczas mówimy o wzroście TEWL [40]. Współczynnik ten opisuje ilość wody w gramach wyparowanej z 1m² skóry w ciągu jednej godziny (g/m²/h). W ciągu doby wyparowuje jej około 300cm³ zgodnie z prawem dyfuzji Fick'a [39].

$$\frac{dm}{dt} = -DA \cdot \frac{dp}{dx} \quad /1/$$

gdzie:

A - powierzchnia [m²]

m - masa transportowanej wody [g]

t - czas [h]

D - współczynnik dyfuzji 0.0877 g/m [Pa]

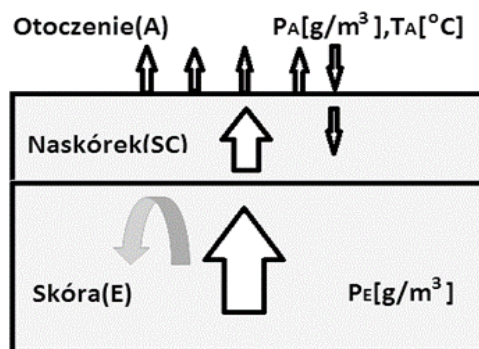
p - ciśnienie parcjale pary wodnej [Pa]

x - dystans z powierzchni skóry do punktu pomiarowego [m]

Nie jest możliwa ocena stanu skóry w sposób bezpośredni, dlatego można go szacować, mierząc stopień parowania wody. Zdrowy naskórek przepuszcza niewielką ilość wody, dlatego też wartości współczynnika TEWL będą niższe, niż w przypadku skóry przesuszonej. Metoda ta wykorzystuje higrometr elektryczny do zmierzenia ilości wody traconej z organizmu, przez warstwę rogową naskórka. Woda wyparowuje przez cylinder sondy, a gradient gęstości jest mierzony pośrednio przez dwie pary czujników (temperatury i wilgotności względnej) a następnie analizowany przez mikroprocesor. Cylindryczna konstrukcja sondy pomiarowej chroni przed zakłóceniami zewnętrznymi (turbulencją powietrza). Ilość wody przepływająca przez czujnik jest ekstremalnie mała, dlatego czujniki pracują lepiej, jeśli ich temperatura będzie odpowiadać temperaturze skóry. Próbnik utrzymuje stałą temperaturę w zakresie 28°C-32°C. Z uwagi na fakt, iż pocenie się ma wpływ na pomiar, dokonuje się go w temperaturze otoczenia 22°C lub niższej, w warunkach niepowodujących pocenia się. Współczynnik ten zależy od czynników takich jak wiek, płeć, miejsce powierzchni ciała, temperatura skóry, potliwość czy stan emocjonalny pacjenta [41].

Spośród wszystkich części ciała wartość nawodnienia jest wysoka w skórze twarzy i górnych częściach ciała, gdzie wydzielanie sebum jest duże, a niska w kończynach dolnych [42]. Skóra na twarzy oraz zewnętrznych narządach płciowych wykazuje wysokie wartości TEWL [31]. Skóra ze stanem zapalnym, w którym dochodzi do powstania łusek niezmiennie wykazuje wysokie wartości TEWL, odzwierciedlając utratę funkcji barierowej. Skóra sucha łuszczy się, staje się szorstka, mniej elastyczna. Siłą wymuszającą i równocześnie napędzającą transepidermalny transport wody jest gradient stężeń, czyli różnica stopnia uwodnienia poszczególnych warstw skóry. Przepływ wody jest wymuszony dążeniem do wyrównania tej różnicy stężeń. Ze względu na ciągłe odparowywanie wody z powierzchni skóry wyrównanie takie nie jest możliwe i przepływ transepidermalny ma charakter ciągły. Im wyższy gradient wilgotności, tym wyższe parowanie. Tewametr z zamkniętą komorą pomiarową, w którym czujnik wilgotności jest umieszczony nad skórą, TEWL jest wyliczany na podstawie zmiany wilgotności w czasie. Brak obecności strumienia powietrza niweluje problemy, ale pojawia się trudność, nasycenia powietrza w komorze parą wodną. Do pomiaru TEWL został skonstruowany system pomiarowy oparty na metodzie pomiaru przyrostu wilgotności powietrza w zamkniętej komorze pomiarowej. Mając daną powierzchnię parowania i czas trwania pomiaru otrzymujemy bezpośrednio wartość współczynnika TEWL. Naskórek dzięki swoim własnościom pełni rolę bariery przed nadmierną utratą wody i w określonych warunkach otoczenia ustala się szybkość parowania wody [38].

Współczynnik ten zależy od koncentracji wody w otoczeniu, koncentracji wody w skórze i od szczelności bariery naskórka. Proces parowania można przedstawić za pomocą modelu elektrycznego, w którym różnice potencjałów reprezentują stężenie molekuł wody ρ_A i ρ_E odpowiednio w otoczeniu i w skórze, a rezystancje R_A (ang. resistance air) rezystancja powietrza i R_{SC} (ang. resistance of stratum corneum) rezystancja naskórka, są rezystancjami dyfuzyjnymi powietrza i naskórka (rycina 15).



gdzie:
 ρ_A - stężenie molekuł wody w otoczeniu
 ρ_E - stężenie molekuł wody w skórze
 T_A - temperatura otoczenia

Rycina 15. Proces parowania skóry [15]

Do uzyskania porównywalnych wyników niezbędne jest stworzenie takich warunków pomiaru, w których wpływ czynników osobniczych i środowiskowych byłby zredukowany. Czynniki drażniące zwykle powodują zwiększenie TEWL, poprzez wpływ na integralność warstwy rogowej. Kolejnym zastosowaniem jest ocena efektów leczenia dermatoz np. skuteczności terapii miejscowej w atopowym zapaleniu skóry, łuszczycy oraz kontaktowym zapaleniu skóry z podrażnienia [42].

Utratę wilgoci z powierzchni skóry określa się również mianem nawodnienia powierzchni skóry po okluzji. SSWL (ang. skin surface waterloss after occlusion). Wartość ta może być mierzona przy użyciu tych samych urządzeń, co TEWL. Przenaskórkowa utrata wody związana jest również z wydzielaniem potu przez ujścia gruczołów potowych oraz parowaniem wody przez naskórek [43,44]. Na wartość nawodnienia wpływa liczba warstw korneocytów, ich wielkość i wzajemne przyleganie. Im większa średnica korneocytów, tym dłuższa droga parowania i mniejsza wartość TEWL. Rozmiar korneocytów zależy od obszaru skóry. Najmniejszą liczbę i średnicę korneocytów stwierdza się w obrębie skóry twarzy, co ma wpływ na zwiększone przenikanie wody [45,46]. Hadgraf i Lane donoszą, że proces szybszego dojrzewania keratynocytów ma wpływ na mniejsze wymiary komórek, co jest związane z większą aktywnością proteaz warstwy rogowej SCCE (ang. stratum corneum chymotryptic enzyme) [47].

Wyniki pomiarów TEWL zależne są od płci, wieku badanych, aktywności gruczołów potowych, a także wilgotności i temperatury otoczenia oraz pory dnia, w której wykonywany jest pomiar. Firooz i wsp. [48] zaobserwowali wyższe wartości TEWL u mężczyzn, czego nie stwierdzili Machado i wsp. [49]. Doniesienia o zależności wartości TEWL od wieku są różne. Wilhelm i Maibach [50] stwierdzili, że wartości TEWL są niższe u osób starszych w porównaniu z młodszymi, co można by tłumaczyć zwiększeniem rozmiarów korneocytów wraz z wiekiem [49]. Wpływu wieku na wartości TEWL nie obserwowali natomiast Roskos i wsp. [51]. Wartości TEWL zależą również od aktywności gruczołów potowych w miejscach, gdzie gruczołów jest więcej, np. w obrębie skóry dłoni i stóp, wartości są wyższe. Najniższe wartości stwierdza się na skórze kończyn, zwłaszcza podudzi [47]. Na twarzy w obrębie skóry czoła wartości TEWL są wyższe niż na skórze policzków [52,53]. Wyższe wartości stwierdza się przy wzroście temperatury otoczenia. Ulegają one obniżeniu przy dużej wilgotności względnej [54]. Yosipovitch i wsp. [55] wskazują na zależność wartości TEWL od pory dnia. Mniejsze wartości wykazali w godzinach porannych, zdecydowanie wyższe zaś w godzinach wieczornych. Zdaniem Le Fura i wsp. [56] wysokie wartości TEWL związane są z mniejszym nawilżeniem naskórka, co świadczy o zaburzeniu funkcji barierowej naskórka. Podwyższenie wartości TEWL następuje także przy pH wyższym niż 5,5. Znaczenie ma wpływ ilość wydzielanego łoju i lipidów naskórka [55]. Pomiar przesnaskórkowej utraty wody służy do oceny sprawności funkcji barierowej skóry, jego mniejsze wartości świadczą o lepszym nawilżeniu skóry. W prawidłowych warunkach, którym nie towarzyszy zwiększone wydzielanie potu, wartość ta wynosi 85-170ml/dobę [57]. Najczęściej do pomiaru wartości TEWL wykorzystuje się metodę komory otwartej, która oparta jest na I prawie dyfuzji Ficka, zakładającego, że masa strumienia dyfuzji w określonym czasie, jest proporcjonalna do powierzchni badanego obszaru i czasu [49,58-61]. Pomiaru TEWL dokonuje się za pomocą tewametry, który ma kształt cylindra (o średnicy 10mm i wysokości 20mm), otwartego z obu stron. Sonda wyposażona jest dodatkowo w dwa czujniki, które mierzą wilgotność i temperaturę, określające wartości gradientu ciśnienia wyparowanej wody. Najbardziej miarodajny pomiar TEWL uzyskuje się stosując metodę ciągłą, która polega na wielokrotnej rejestracji sygnałów sondy, co eliminuje wpływ ewentualnych różnic temperatur i wilgotności pomieszczenia, gdzie wykonywane są pomiary [58,62-64]. Pomiary parametrów czynnościowych skóry należy wykonywać w ściśle określonych warunkach, o określonej porze dnia. Po aklimatyzacji probantów przez 20-30 minut, osoby objęte badaniem są informowane o konieczności niestosowania emolientów i detergentów.

Zdaniem niektórych autorów wpływają one na zmiany parametrów czynnościowych skóry [56,58]. Urządzenie wykorzystywane do pomiaru parametrów czynnościowych skóry, przed każdą serią pomiarów należy kalibrować [44]. Na prawidłowe funkcjonowanie bariery naskórkowej, a tym samym na uzyskiwane wyniki pomiarów czynnościowych skóry, wpływa szereg czynników, zarówno wewnętrznych jak i zewnętrznych. Pierwsze z nich obejmują zaburzenia hormonalne, inne współistniejące choroby skóry i choroby ogólnoustrojowe, a także sam proces starzenia się skóry związany z upływem czasu [65]. Do czynników zewnętrznych zalicza się wpływ klimatu (mróz, wiatr, ekspozycja na UV, wysoka temperatura), stres, przyjmowane leki (sterydy, retinoidy), dieta i używki. U kobiet na funkcje barierowe skóry ma także wpływ cykl miesięczny, ciąża, menopauza wpływający na wydzielanie lipidów naskórkowych, produkcję łoju, grubość skóry, nawilżenie, jak i funkcję barierową [66-68]. Innym czynnikiem mającym wpływ na funkcje bariery naskórkowej jest stres. O zmniejszeniu funkcji barierowej skóry w warunkach stresu donoszą Garg i wsp. [69] oraz Muizzuddin i wsp. [70]. Wpływu stresu psychologicznego na parametry czynnościowe skóry takie jak: zmiany nawilżenia warstwy rogowej czy pH powierzchni skóry nie wykazali natomiast Chuong i wsp. [71]. Wszystkie te czynniki odpowiadają za pojawianie się zmian morfologicznych i czynnościowych w skórze [72], które mogą zaburzać jej prawidłową funkcję barierową. W ocenie funkcji barierowej skóry przydatność pomiarów parametrów czynnościowych skóry jest bezdyskusyjna [73].

3.4. Pomiar wiskoelastyczności skóry

Pomiar parametrów czynnościowych skóry, prowadzony za pomocą kutanometrii, pozwala na ocenę jej biomechanicznych właściwości, takich jak rozciągliwość i wiskoelastyczność, która określa zawartość i jakość włókien skóry człowieka. Pomiar elastyczności polega na zmierzeniu oporu stawianego przez skórę podczas wciągania w sondę oraz jej zdolności powracania do pozycji początkowej. Głębokość wnikania określana jest optycznie z dokładnością do 0,01 mm. Mierzone jest maksymalne odkształcenie włókien kolagenowych, włókien elastynowych, histereza oraz elastyczność. Zmiany wykrywane tą metodą odzwierciedlają stan nawodnienia warstwy rogowej naskórka, grubość naskórka, stopień zmian włóknistych, stan macierzy skóry właściwej. Pomiar oparty jest na metodzie zasysania, gdy podciśnienie lekko wciąga skórę do szczeliny sondy. Sonda pneumatyczna zasysana jest na 3s, następnie ujemne ciśnienie ustaje, skóra powraca do pierwotnego ułożenia. Głębokość penetracji skóry jest określana i zapisywana optycznie, podczas zasysania oraz zwolnienia sondy [39].

Do oceny tych samych właściwości, co kutometr, służy twistometr, który zamiast zasysania skóry określa elastyczność, wprawiając jej fragment w ruch obrotowy. Mierzony jest opór, stawiany przez skórę oraz czas, w jakim powraca ona do stanu wyjściowego [41]. Wskazania elastyczności dokonuje także ekstensjometr przy pomocy dwóch paneli, umieszczonych w odległości 10mm, które na powierzchni skóry oddalają się od siebie, rozciągając skórę o ok. 30%. Aparat bada siłę, jaka musi być użyta oraz stopień rozciągnięcia skóry, co pozwala określić stan włókien kolagenowych i elastynowych. Sensor siły kreśli wykres zależności siły od wielkości naciągnięcia skóry oraz podaje czas, w jakim nastąpiło zatrzymanie rozciągania.

Metoda pomiaru, za pomocą balistometru, polega na działaniu określonej siły nacisku na powierzchnię skóry, w wyniku czego pochłania pewną ilość energii, a następnie ją odbija. Mierzona jest liczba i wysokość odbić, ilość zaabsorbowanej i odbitej energii.

Metoda pomiaru reviscometrem określa elastyczność, poprzez pomiar przebiegu rezonansu igłowych czujników gdzie jeden przekazuje akustyczną falę uderzeniową, drugi jest odbiornikiem. Mierzony jest czas przejścia fali od nadajnika do odbiornika. Fala uderzeniowa rozprzestrzenia się w zależności od elastyczności skóry, ze zmienną prędkością biegnąc wzdłuż lub równoległe do włókien skóry, co pozwala na określenie ich kierunku. Im dłuższy czas rozprzestrzeniania się fal, tym wyższa jest wartość pomiaru i tym mniej elastyczny materiał [39].

3.5. Pomiar odczynu skóry

Pomiar odczynu skóry dokonywany jest pehametrem, odpowiednie pH powierzchni skóry i warstwy rogowej odgrywa ważną rolę w utrzymaniu prawidłowej flory fizjologicznej skóry. Odczyn skóry właściwej wynosi 7, a naskórka 5 [39].

3.6. Ocena stopnia przetłuszczania się skóry

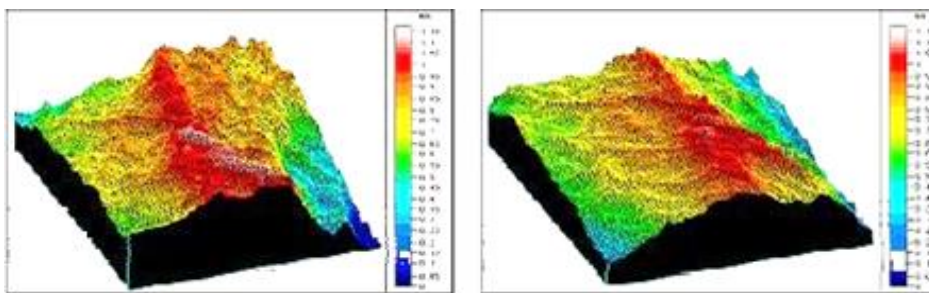
Ocenę stopnia przetłuszczania się skóry dokonuje się za pomocą sebumetru, który wskazuje aktywność gruczołów łojowych za pomocą syntetycznej taśmy (sebutape) o grubości 0,1mm. Mierzona jest przepuszczalność światła przez foliową taśmę po jej zetknięciu z powierzchnią naskórka i jej lipidami. Metoda ta pozwala na określenie rodzaju skóry oraz zaawansowania łojotoku. Czas pomiaru ok. 30s, nie powoduje efektu okluzji, stały słaby nacisk zapewnia powtarzalność wyników. Przezroczystość folii jest mierzona przez ilość światła, która przechodzi przez taśmę i określana za pomocą fotokomórki. Przenikanie światła odzwierciedla zawartość sebum na powierzchni skóry [39].

3.7. Ocena stopnia zabarwienia skóry

W celu oceny zabarwienia, zmian naczyniowych, rumienia skóry, dokonuje się pomiaru za pomocą meksametru (kolorymetru, chromametru), wyposażonego w sondę, emitującą światło o określonej długości fali. Pomiar wyemitowanego światła pozwala zmierzyć ilość światła wchłoniętego. Za pochłanianie światła odpowiedzialne są chromofory melanina, hemoglobina i oksyhemoglobina. Kolor skóry zależy od pochłaniania, odbicia lub rozpraszania światła w naskórku i skórze właściwej [39].

3.8. Pomiar topografii, gładkości powierzchni skóry

Metoda profilometrii polega na obserwacji powierzchni skóry (mikrorzeźby). Topografię powierzchniową skóry przenosi się do miękkiego materiału celulozowego lub gumy silikonowej, dalej do żywicy i obserwuje się pod światłem lub mikroskopem elektronowym. W profilometrii pośredniej, wykonywany jest silikonowy odlew topografii analizowany za pomocą mikroskopu elektronowego lub na podstawie cieni, powstających przy ukośnie padającym świetle. Badanie mikrotopograficzne polega na przyłożeniu głowicy wyposażonej w kamerę, do naskórka i obrazowania go na monitorze. Komputer dokonuje analizy gładkości na podstawie szeregu czynników. Szorstkość (głębokość zmarszczek) można ocenić używając replik i techniki profilometrii skóry. Silikonową gumę nakłada na testowany obszar, który po zestaleniu usuwa się i analizuje metodą optycznej profilometrii [74] (rycina 16).



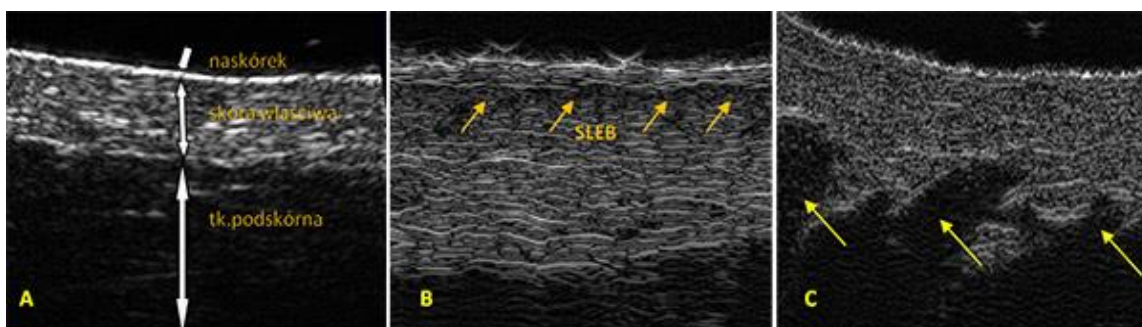
Rycina 16. Obraz profilometrii skóry [16]

3.9. Pomiar skórniego przepływu krwi

Metoda ta polega na zastosowaniu laserowego dopplerowskiego przepływomierza, dokonującego pomiaru skórniego krążenia krwi. W obrazowaniu wykorzystuje się zjawisko Doppler'a, polegające na zmianie częstotliwości i długości fali światła laserowego, odbitego od poruszających się krwinek, podczas gdy częstotliwość fali odbitej od elementów tkanki pozostaje niezmienną. Sygnał powstający po odbiciu wiązki światła laserowego jest rejestrowany przez detektor urządzenia, ulega on zamianie w impuls elektryczny i po przetworzeniu przedstawiany jest, jako kolorowy obraz przepływu krwi [39].

3.10. Pomiar obrazowy USG

Ultrasonografia pozwala na ocenę grubości skóry i wizualizację jej elementów, nawet do głębokości kilku centymetrów. Wykorzystuje zjawisko rozchodzenia się, rozpraszania oraz odbicia fali ultradźwiękowej, na granicy dwóch różnych ośrodków. Pozwala to na uzyskanie obrazu przekroju skóry, w wielu odcieniach szarości. Fala ultradźwiękowa, przechodząc przez warstwy skóry, jest częściowo pochłaniana i odbijana, tworząc echa o różnych amplitudach. Im większa częstotliwość, tym lepsza rozdzielczość, ale mniejsza głębokość penetracji. Średnia amplituda echa w danym obszarze to echogeniczność, która różni się zależnie od warstwy [75]. Pierwsze echo pochodzi od naskórka i zależy od grubości warstwy rogowej. Więcej zrogowaceń w tym obszarze powoduje, że echo jest silniejsze. Na ultrasonograficznym obrazie skóry zdrowej możemy wyróżnić trzy podstawowe warstwy: echo naskórka, skórę właściwą, tkankę podskórną [76] (rycina 17).



Rycina 17. Ultrasonograficzny obraz skóry z widocznymi warstwami: echem naskórka, skórą właściwą, tkanką podskórną; obraz wykonany ultrasonografem klasycznym z głowicą liniową (A); obraz wykonany ultrasonografem wysokich częstotliwości z głowicą mechaniczną 50MHz (B), obraz cellulitu (C)[17]

Pierwszą widoczną warstwą jest hiperechogeniczna linia odpowiadająca naskórkowi. W 1992 r. Altmeyer uznał, że linia ta nie jest naskórkiem, a jedynie tworzą ją odbicia między żelem a powierzchnią skóry oraz odbicia od naskórka i pęcherzyków powietrza znajdujących się pomiędzy zrogowaciałymi komórkami naskórka, zaproponował nazywanie jej echem naskórka [77]. Pomiędzy echem naskórka a skórą właściwą obserwować można bezechowe pasmo, tzw. SLEB (ang. subepidermal lowechogenic band), obszar o obniżonej echogeniczności lub SENEb (ang. subepidermal nonechogenic band), pasmo granicy skórno-naskórkowej. SLEB pojawia się w skórze poddanej zwiększonej ekspozycji na UV. Wzrost grubości SLEB związany jest z zatrzymywaniem wody w warstwie brodawkowatej [78]. Na obrazach ultrasonograficznych skóra właściwa stanowi niejednorodną, pod względem echogeniczności warstwę, z odbiciami hiperechogenicznymi, pochodzącymi od włókien kolagenowych i hipoechogenicznymi, od macierzy zewnątrzkomórkowej znajdującej się pomiędzy włóknami kolagenowymi.

Włókna kolagenowe warstwy dolnej są grubsze, a tym samym mocniej odbijają ultradźwięki. Echo skóry właściwej zależy od włókien skórnych i zawartości wody. W przypadku skóry zdrowej, na podstawie pomiaru jej grubości oraz echogeniczności, można opisywać zmiany spowodowane procesami starzenia [79,80]. Jak wykazują Waller i Maibach [79], wśród badaczy nie ma zgodności, co do zmian w grubości skóry, zachodzących wraz z wiekiem. W kilku pracach wykazano, że skóra właściwa jest najgrubsza u osób młodych, następnie wraz z wiekiem dochodzi do jej ścięczenia [81].

Ultrasonografia wysokiej częstotliwości HFUS (ang. high frequency ultrasound) to metoda, obrazująca skuteczność procedur medycyny estetycznej. Dzięki wysokiej rozdzielczości, obrazuje bardzo dokładnie wszystkie warstwy skóry. Istnieje możliwość pomiaru tkanek pod jej powierzchnią z dokładnością do kilkunastu mikrometrów. Badanie HFUS pozwala ocenić jej grubość, strukturę wewnętrzną, zawartość włókien kolagenowych, obecność oparzeń słonecznych, stanów zapalnych, lokalizacji wypełniaczy. Aparaty z głowicami ponad 50 MHz umożliwiają również ocenę naskórka. Najdokładniejsza głowica do badań klinicznych, pracująca w częstotliwości 75MHz, obrazuje z rozdzielczością pozwalającą mierzyć zmiany z dokładnością do 21µm [82]. Pomiar grubości skóry, jej gęstości akustycznej, a także precyzyjny pomiar naskórka z odwzorowaniem jego powierzchni, daje możliwość porównania stanu przed i po zabiegach zmieniających jędrność oraz powierzchnię skóry. Zarówno lekarz, kosmetolog, jak i pacjent, w czasie rzeczywistym widzi efekty, które są mierzalne i trudne do zakwestionowania. To szczególnie ważne w przypadku nieuzasadnionych roszczeń ze strony pacjentów. Daje to kontrolę skuteczności oraz umożliwia szybką interwencję w przypadku efektów niepożądanych. Badanie bezpośrednio przed iniekcją umożliwia określenie grubości skóry, co pozwala precyzyjnie podać wypełniacz w miejsce jego przeznaczenia: śródskórnym lub podskórnym [81]. HFUS, czyli ultrasonografia wysokich częstotliwości, umożliwia obrazowanie blizn, pomiar ich rozległości pod skórą, śledzenie procesu gojenia, regeneracji skóry i tkanek podskórnych. Szczególnie przydatne w przypadku komplikacji związanych z nieprawidłowym gojeniem, stanami zapalnymi lub ciałami obcymi pod powierzchnią skóry. Ultrasonografia skóry stworzona została, jako narzędzie pozwalające na zaawansowaną diagnostykę dermatologiczną. Przy rozdzielczościach rzędu 75 MHz, uwidacznia się najmniejsze zmarszczki wraz z przekrojem poprzecznym, umożliwiającym pomiar zarówno samej głębokości i szerokości, oraz ocenę efektów korekcji. Możliwości zastosowań HFUS w medycynie estetycznej jest wiele, a efekty widoczne po pewnym czasie, mogą być regularnie monitorowane [82].

3.11. Mikroskopia

Mikroskopia powierzchniowa skóry przeprowadzana jest za pomocą dermatoskopu, stosowanego do oceny znamion barwnikowych i naczyniowych oraz możliwości przekształcania ich w stany nowotworowe. Dermatoskop zwiększył precyzję diagnostyki brodawek łojotokowych, plam soczewicowatych oraz czerniaka złośliwego [83].

Wideodermatoskop to urządzenie diagnostyczne, które jest nowszą wersją dermatoskopu. Badanie polega na przyłożeniu do powierzchni skóry głowicy, wyposażonej w kamerę i obrazowaniu znamion. Komputer analizuje zmianę, podając jej cechy (symetrię, kolor, nowotworzenie). Aparaty te posiadają opcję archiwizacji, dzięki czemu można obserwować czy znamię ulega zmianie [39].

Mikroskopia konfokalna to technika obrazowania tkanek, w której dzięki skupionej wiązce światła laserowego przechodzącej przez badany obiekt uzyskuje się jego przekroje optyczne [84]. Metoda ta polega na detekcji wyemitowanego przez laser promieniowania, które w naskórku i w skórze właściwej uległo częściowo odbiciu, pochłonięciu lub rozproszeniu. Zjawiska te zależą od optycznych właściwości skóry, stanowiących wypadkową obecności chromoforów, takich jak melanina, hemoglobina, organella komórkowe [85].

W celu odzwierciedlenia tego zjawiska komórki hoduje się w pożywce, ubogiej w składniki odżywcze, spowalniającej procesy życiowe, co sprawia, że tracą zdolność podziału, ulegają starzeniu i śmierci. Stanowi to analogie do starzenia się skóry z wiekiem. W hodowlach odtwarza się sam naskórek z wszystkimi jego warstwami. Przy użyciu mikroskopu konfokalnego można *in vivo* obserwować architekturę naskórka i skóry właściwej do głębokości 300-350 μ , z rozdzielczością na poziomie 0,5-1 μ m w płaszczyźnie poprzecznej i 4-5 μ m w płaszczyźnie osiowej [86].

4. Promieniowanie elektromagnetyczne w terapii

W zakres częstotliwości radiowych fal elektromagnetycznych wchodzi drgania o zakresie od 3 kHz do 300 GHz. Fale radiowe (promieniowanie radiowe) zależnie od długości dzielą się na pasma radiowe. Częstotliwość radiowa fal elektromagnetycznych jest wytwarzana przez prąd zmienny co znajduje zastosowanie w zabiegach remodelingu skóry twarzy [87]. Od długości fali pochodzą określenia zakresów częstotliwości radiowych lub inaczej podział widma fal radiowych: fale długie, średnie, krótkie. Głębokość ich wnikania do skóry jest odwrotnie proporcjonalna do częstotliwości, czyli najmniejsza przy najwyższych częstotliwościach [88]. Terapia częstotliwościami radiowymi (radiofrekwencja) wywołuje efekt termiczny, w wyniku przepływu przez skórę prądu elektrycznego o wysokiej częstotliwości [89,90]. Ciepło endogenne wytwarzane jest dzięki ruchowi postępowemu jonów, który wymuszony jest przez różnicę potencjałów wytwarzanych na elektrodach. Cząstki naładowane elektrycznie podczas przemieszczania trą o siebie i ośrodek, w jakim się poruszają, w efekcie, czego wytwarzane jest ciepło. Ilość ciepła generowanego w skórze opisuje prawo Joule'a. Ciepło jest wytwarzane, gdy strumień prądu fal radiowych przepływa i napotyka opór w tkance. Opór tkanki jest odwrotnie proporcjonalny do przewodnictwa elektrycznego [91].

$$Q = I^2 \cdot R \cdot T$$

/2/

gdzie:

I - natężenie prądu elektrycznego

R - opór elektryczny, odwrotność przewodnictwa elektrycznego

T - czas działania bodźca

Energia dostarczana jest wprost proporcjonalnie do natężenia prądu i czasu. Jeśli impedancja maleje, natężenie musi wzrosnąć, aby utrzymać tę samą ilość energii; i odwrotnie, jeśli impedancja wzrasta, natężenie musi zmniejszyć się z tego samego powodu [42].

Przepływ fal radiowych przez tkanki to złożony proces, który zależy od dodatkowych czynników, takich jak: częstotliwości prądu elektrycznego i jego wartości bezwzględnej, cech fizycznych docelowej tkanki (zawartości elektrolitów, temperatury, poziomu uwodnienia), dystrybucji prądu dostarczanego do skóry, zależnej od geometrii i rozmieszczenia elektrod. W tkankach, zawierających znaczną ilość elektrolitów, ilość wytworzonego ciepła jest większa niż w tkankach o słabym uwodnieniu i małej ilości elektrolitów. Skórę cechuje duże uwodnienie i duża zawartość elektrolitów [92]. Działanie zewnętrznego, zmiennego pola elektromagnetycznego powoduje ruch jonów w tkance. Poruszające cząsteczki ocierają się o siebie, wywołując emisję ciepła endogennego. Ciepło jest formą energii związanej z ruchem cząsteczek.

Temperatura ciała wzrasta, gdy zwiększa się prędkość kinetyczna cząsteczek, im szybciej one drgają tym ciało ma większą temperaturę. Zmienny prąd elektryczny, wielkiej częstotliwości, wytworzony między elektrodami powoduje, że w elektrolicie tkankowym jony przemieszczają się, ujemne w stronę anody, dodatnie w stronę katody. W wyniku zmian biegunów elektrod dochodzi do oscylacji jonów wokół ich średnich położenia (polaryzacja jonowa). W dielektrykach (ciałach słabo przewodzących prąd elektryczny) dochodzi do naprzemiennego przesuwania się ładunku. Efekty biologiczne zależą od ilości pochłoniętej energii (prawo Grotthusa-Drapera). Przemiany fotochemiczne wywołuje ta część promieniowania świetlnego, która ulega pochłonięciu przez reagujący układ, na przebieg reakcji nie ma wpływu promieniowanie odbite. W efekcie drgań jonów wytwarza się ciepło terapeutyczne. Tkanki ciała ludzkiego zawierają jony różnych soli, głównie sodu i chloru, więc temperatura tkanki poddanej działaniu szybkozmiennego pola elektrycznego będzie rosła. Przewodzenie ciepła, czyli proces wymiany ciepła między ciałami o różnej temperaturze pozostającymi ze sobą w stałym kontakcie, polega na przekazywaniu energii kinetycznej bezładnego ruchu cząsteczek w wyniku ich zderzeń. Proces ten prowadzi do wyrównania temperatury między ciałami. Ilość energii przekazanej przez jednostkę powierzchni w jednostce czasu jest proporcjonalna do różnicy temperatur [93].

4.1. Zastosowanie kliniczne, efekty biologiczne oraz skuteczność diatermii

Pierwszy aparat do wytwarzania prądów wysokiej częstotliwości skonstruował N. Tesla w 1891 r., a do leczenia wprowadził je fizjolog J.A. d'Arsonval w 1892 r. W 1908 r. zostało zapoczątkowane przez R. von Zeyneka i K. Nagelschmidta leczenie falami długimi. Wówczas także została wprowadzona nazwa „diatermia” (gr. *dia*-przez, *therme*-gorąco). Diatermia długofalowa daje możliwość przegrzania do takiej temperatury, która ścina białka i prowadzi do kauteryzacji tkanek, zamykając jednocześnie rozcięte naczynia krwionośne, dzięki czemu można przecinać skórę oraz wycinać narządy [94]. Spośród stosowanych metod głębokiego przegrzewania tkanek za pomocą prądów wysokiej częstotliwości są: diatermia krótkofalowa ciągła oraz impulsowa a także diatermia mikrofalowa. Większe przegrzanie tkanki tłuszczowej niż mięśni, ma związek z mniejszym jej ukrwieniem i przewodnością cieplną [94,95]. Promieniowanie elektromagnetyczne może ulegać odbiciu, kumulować się w warstwach tkanek, powodując przegrzanie bardziej powierzchowne lub głębokie [93,94]. Zabiegi przegrzewania, impulsowym polem wysokich częstotliwości, wpływają na intensyfikację fagocytozy, wytwarzanie enzymów [96].

Wzrost temperatury podnosi odporność przeciwbakteryjną, przeciwwirusową oraz stymuluje układ immunologiczny [93,96]. Poprzez działanie na błony komórkowe, impulsowe pole elektromagnetyczne wpływa pośrednio na wzrost i regenerację komórek. Zmiany zachodzą też w przepływie jonowym, głównie dotyczy to jonów sodu i potasu, które biorą udział w zmianie polaryzacji błon komórkowych [96,97]. Przegrzewanie za pomocą diatermii wpływa kojąco i uspokajająco na układ nerwowy, zmniejsza przewodnictwo nerwowe, przez co działa przeciwbólowo. Powoduje także przyspieszenie przemiany materii, spadek ciśnienia krwi oraz zwiększone wydalanie moczu.

Dawki stosowane w diatermii:

dawka atermiczna (I) - bardzo mała, nieco mniejsza od odczuwalnej do 30W;

dawka oligotermiczna (II) - minimalne, progowe odczucie ciepła 30-60W;

dawka termiczna (III) - średnia, odczucie przyjemnego ciepła 60-120W;

dawka hipertermiczna (IV) - duża, wywołująca silne uczucie ciepła - ok.120W.

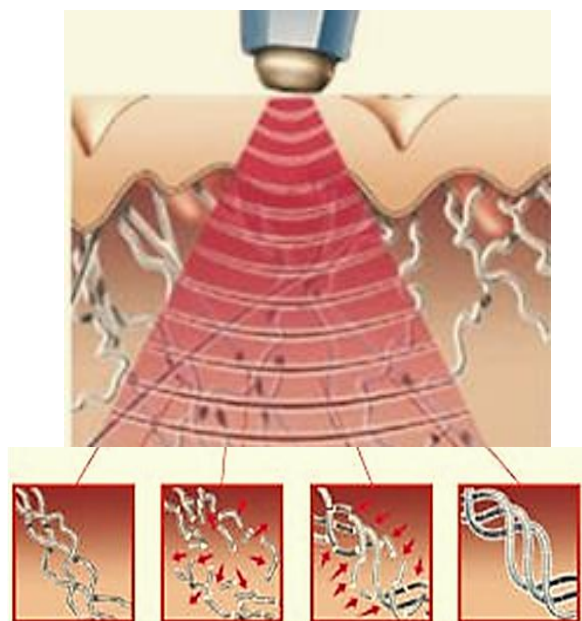
Ogólna zasada diatermii mówi że małe i płytko leżące narządy wymagają mniejszej mocy emisji. Im są większe i głębiej położone, tym moc powinna być większa. W stanach ostrych: dawka słabsza i krótszy czas zabiegu (5-12 min), ale większa ich częstość. Przy schorzeniach przewlekłych: mocniejsza dawka, dłuższy czas zabiegu (15-30 min), lecz mniejsza częstość (5 razy w tygodniu lub co drugi dzień). Optymalnie seria: 7-10 zabiegów [63].

4.2. Diatermia o częstotliwości radiowej

Efekt biologiczny terapii z zastosowaniem częstotliwości radiowych związany jest z oddziaływaniem ciepła na tkanki. Podczas zabiegu diatermii ciepło wytwarzane jest wewnątrz tkanek, w ich całej objętości (ciepło endogenne), w odróżnieniu od ciepła dostarczanego z zewnątrz (ciepła egzogenne) [62]. Zmienne pole o takiej częstotliwości powoduje efekt cieplny, zależny od oporu stawionego przez tkankę. Ciepło powstające wewnątrz tkanki powoduje: rozszerzenie naczyń krwionośnych, zwiększenie przepływu krwi, poprawę ukrwienia tkanek, pobudzenie procesów przemiany materii, zmniejszenie napięcia mięśniowego, zmniejszenie pobudliwości układu nerwowo - mięśniowego [63].

5. Metody terapii z zastosowaniem częstotliwości radiowych

Zabiegi z zastosowaniem terapii częstotliwościami radiowymi w ostatnich latach stały się powszechną metodą remodelingu skóry twarzy i ciała. Znając zasadę działania terapii częstotliwościami radiowymi można zauważyć niefortunne nazewnictwo tej terapii. Fala radiowa, w języku polskim, jest to fala elektromagnetyczna o częstotliwości radiowej. W opisywanej terapii fala elektromagnetyczna nie jest czynnikiem zabiegowym, a w oryginalnych opisach anglojęzycznych nie używa się słowa fale lub promieniowanie, mowa jest o terapii częstotliwością radiową (RF therapy). Określenia „fale radiowe” i „radiofrekwencja” upowszechniły się i są bezkrytycznie przyjmowane. Zmienne pole elektromagnetyczne, o żądanej częstotliwości, powoduje efekty ciepłne, zależne od oporu stawianego na tkankę. Duże ciepło parowania powoduje, że para unosi ciepło, co pomaga ograniczyć wzrost temperatury w przylegających tkankach. Terapia częstotliwościami radiowymi powoduje chwilowe podgrzanie i rozciągnięcie włókien kolagenowych (uszkodzenie wiązań peptydowych w superhelisie). Natychmiastową odpowiedzią jest ich skrócenie, w wyniku przerwania międzycząsteczkowych wiązań krzyżowych, doprowadzając do rozwinięcia potrójnej helisy (rycina 18).



Rycina 18. Proces odnowy włókien kolagenowych pod wpływem działania częstotliwości radiowych [18]

Po osiągnięciu określonego poziomu temperatury (ok. 40°C) włókna ulegają ściągnięciu, obkurczeniu. Emitowana energia nie powoduje ablacji, ale generuje w tkance docelowej energię cieplną, zdolną do spowodowania zmian konformacyjnych, co uzasadnia stosowanie tej formy terapii, jako opóźniającej proces starzenia skóry twarzy [63].

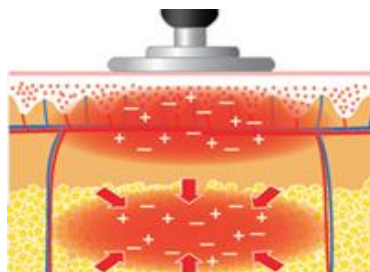
W wyniku częściowej denaturacji włókien kolagenowych „odsłaniają” się determinanty antygenowe, rozpoznawane przez enzymy tzw. metaloproteinazy. Trawią one uszkodzony kolagen, a produkty rozpadu stymulują fibroblasty do syntezy nowego kolagenu. Wzrost temperatury powoduje rozszerzenie naczyń krwionośnych, wzrost transportu tlenu i składników odżywczych do tkanek, tym samym poprawę metabolizmu tkankowego, usuwanie zbędnych produktów przemiany materii w skórze, przyczyniając się do pobudzenia procesów regeneracyjnych. Działanie ciepłem stymuluje fibroblasty do produkcji nowej sieci białek w skórze [98].

Każda metoda bezinwazyjnego odmładzania skóry, przesuwając równowagę na korzyść procesów regeneracyjnych, co wskazuje na czasochłonność syntezy kolagenu, dlatego, efekty są rozłożone w czasie. Po przekroczeniu określonego poziomu temperatury, może dojść do denaturacji włókien kolagenowych, co nie jest efektem korzystnym [99]. W celu zabezpieczenia przed parowaniem tkanek niektóre głowice zabiegowe wyposażone są w system chłodzenia [100].

Można wyróżnić również podział urządzeń pod kątem wytwarzanej temperatury wewnątrz tkanek. Częstotliwość radiowa fal elektromagnetycznych jest stosowana w kosmetologii do podgrzewania głębszych warstw skóry, poprzez przepływ lub indukcję prądu wysokiej częstotliwości, za pośrednictwem elektrod mających kontakt z ciałem. Aparaturę można podzielić ze względu na liczbę biegunów prądu w głowicy zabiegowej na: monopolarne (jednobiegunowe), bipolarne (dwubiegunowe), unipolarne, multipolarne oraz frakcyjną radiofrekwencję mikroigłową [101,102]. Podczas stymulacji impulsowej emisja fali trwa kilka sekund, a stymulacja ciągła wykorzystując prąd o niższym natężeniu, ma dłuższy czas emisji energii [101,103]. Dodatkowy podział związany jest z wartością temperatury uzyskiwanej podczas terapii wewnątrz tkanek, a zabiegi z zastosowaniem częstotliwości radiowych dzielą się na biostymulujące i intensywne [104]. Skuteczność zależy od zastosowanej metody, intensywności przeprowadzonego zabiegu (ilości przebiegów, tolerancji na ciepło), wyjściowej kondycji skóry, zaawansowania procesów starzenia, osobniczych procesów regeneracyjnych, liczby i częstotliwości zabiegów. Aparat do terapii częstotliwościami radiowymi jest generatorem pola elektrycznego o cechach: maksymalna moc wyjściowa (W), pole powierzchni zabiegowej (cm^2), gęstość mocy wyjściowej (W/cm^2), częstotliwość (MHz). Moc musi być wysoka odpowiednio (optymalnie 50W), im większa moc, tym szybciej rozgrzewa się tkanka w polu zabiegowym. Niedostateczne rozgrzanie tkanek, to świadome wykonanie zabiegu nieskutecznego, natomiast zbyt wysoka temperatura może powodować efekt odwrotny od oczekiwanego [105].

5.1. Metoda monopolarna

Metoda monopolarna to układ jednobiegunowy, w którym, jedna elektroda pełni funkcję uziemienia, a druga emituje energię fal radiowych. Głównymi cechami tej konfiguracji jest wysoka gęstość mocy w pobliżu elektrody oraz jej głęboka penetracja. Czynnikiem wpływającym na dystrybucję ciepła w tkance jest geometria oraz rozmieszczenie elektrod [6] (rycina 19).



Rycina 19. Metoda monopolarna [19]

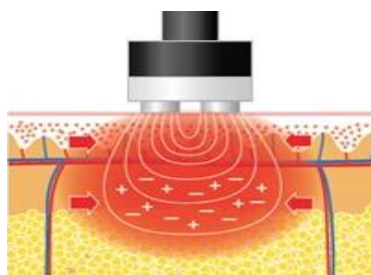
Efekt termiczny uzyskuje się pod elektrodą czynną, w wyniku zagęszczenia energii na dużo mniejszej powierzchni elektrody, w porównaniu z elektrodą bierną. Takie ułożenie elektrod umożliwia głęboką penetrację energii w tkance, a tym samym wytworzenie ciepła w głębszych warstwach skóry i tkanki podskórnej.

Do działań ubocznych tej metody należy rumień, obrzęk oraz oparzenie naskórka, o charakterze przejściowym bez długotrwałych następstw. Wraz z upływem czasu, dzięki modyfikacji źródła, końcówek do aplikacji oraz protokołów zabiegowych, udało się uzyskać mniejszy stopień dyskomfortu, krótszy czas wykonywania zabiegów. Zmiany dotyczące włókien kolagenowych są widoczne w mikroskopii elektronowej po pojedynczym oraz po wielokrotnych przejściach. Po obserwacji zwiększenia liczby przejść głowicą, zakwestionowano konieczność stosowania pojedynczych, bolesnych impulsów o wysokiej energii. Porównywano pierwotny algorytm zabiegowy z wysoką energią dostarczaną w trakcie jednorazowego przejścia, z nowym algorytmem z wykorzystaniem niskiej energii i wielokrotnych przejść. Obecnie protokół zabiegowy wykorzystujący niską fluencję i wielokrotne przejścia stanowi standard postępowania monopolarnego RF [106].

Zastosowanie częstotliwości radiowych w metodzie monopolarnej była pierwszą badaną i rozwijaną techniką małoinwazyjnego poprawiania napięcia skóry. Urządzenie rozpraszało ciepło na kontrolowanej głębokości około 3-4mm [107,108]. Potwierdzono korzyści wynikające z zastosowania tego urządzenia w górnej i dolnej części twarzy [109,110]. W metodzie tej wykonywana jest seria zabiegów w odstępach 4-6 tygodni. Schładzanie powierzchni skóry umożliwia dotarcie ciepła do głębszych warstw tkanki podskórnej [111,112].

5.2. Metoda bipolarna

Metoda bipolarna to układ dwóch zespolonych elektrod umieszczonych w jednej obudowie, gdzie prąd o częstotliwości radiowej przepływa pomiędzy nimi. Takie ułożenie elektrod ogranicza głębokość penetracji energii. Większa ilość ciepła wytwarzana jest w warstwach płytko położonych, między elektrodami. W przypadku bipolarnych głowic obie elektrody są czynne a stymulacja zachodzi w tkance znajdującej się pod i między nimi. Zaletą jest kontrolowana głębokość podgrzania tkanek, głębokość jest bardziej powierzchowna, ograniczona do połowy odległości między dwoma elektrodami. Głębokość ta zazwyczaj odpowiada 2-4mm w obrębie skóry właściwej (rycina 20) [6].



Rycina 20. Metoda bipolarna [20]

Rozmieszczenie ich w ten sposób znacznie ogranicza głębokość penetracji i zdolności przekazywania energii do tkanek skóry a stopień ich przegrzania jest mniejszy. Metoda konfiguracji dwubiegunowej, to układ, w którym prąd przepływa między dwiema elektrodami, które są umieszczone w niewielkiej odległości od siebie. Metoda ta jest zabiegiem nieinwazyjnym, niepowodujący krwawienia, ablacji, jest bezbolesna, nie prowadzi do powstawania ran, zasinień ani opuchlizny. Nie wymaga izolacji po zabiegu, daje natychmiastowe efekty (krótkotrwałe) oraz efekty długotrwałe (odległe). Najlepsze rezultaty występują u osób w w, 30-50 lat, gdzie skóra reaguje na bodźce stymulujące [6].

5.3. Metoda unipolarna

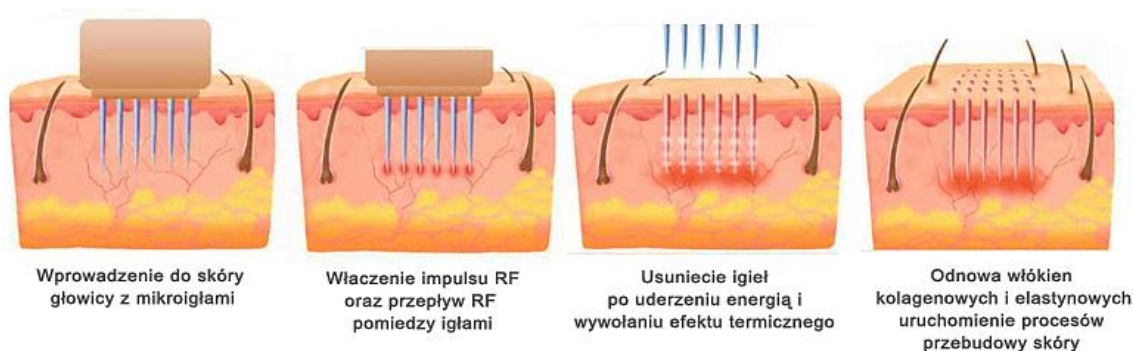
Innym sposobem dostarczania częstotliwości radiowych do docelowych tkanek jest metoda unipolarna. Polega ona na wykorzystaniu tylko jednej elektrody bez płytki uziemiającej. Pole elektromagnetyczne jest emitowane we wszechkierunkowym obszarze wokół takiej elektrody. Metoda ta ma teoretyczną głębokość wnikania wynoszącą 20mm, dociera głęboko do warstwy podskórnej i dlatego używana jest częściej do konturowania ciała. Pojęcie fal radiowych odnosi się wyłącznie do techniki unipolarnej, która polega na zastosowaniu anteny, elektrody bez płytki uziemiającej, emitującej fale o częstotliwości radiowej. Stopień i głębokość przegrzania tkanek uzależnione są od wielkości dawki i częstotliwości fal [113,114].

5.4. Metoda multipolarna

Metoda ta wykorzystuje multipolarną radiofrekwencję. Oddziałuje na skórę twarzy poprawiając jej napięcie. Urządzenie wyposażone jest w głowice przeznaczone do konturowania twarzy i ciała, oraz głowicę umożliwiającą wykonanie radiofrekwencji frakcyjnej [115].

5.5. Metoda frakcyjnej radiofrekwencji mikroigłowej

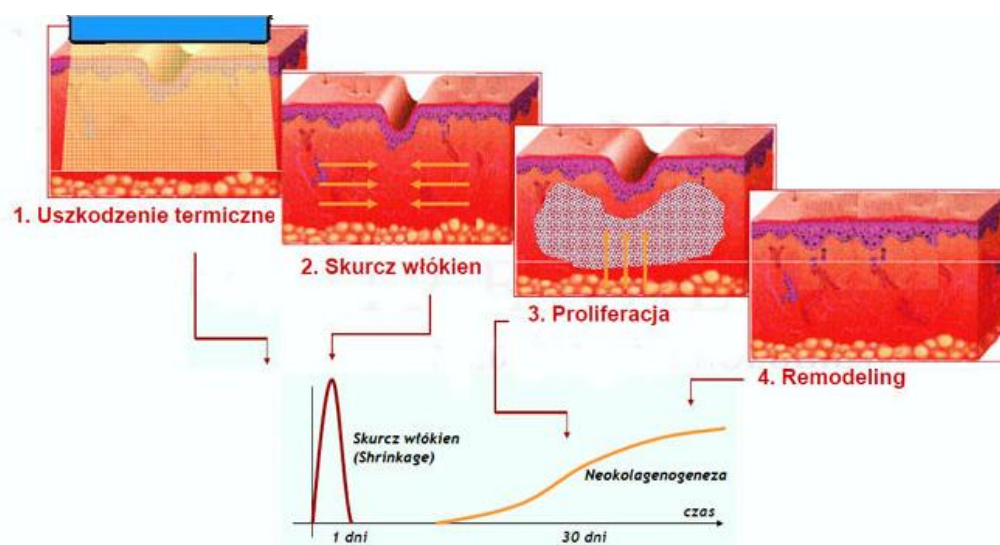
W metodzie tej frakcjonowanie mikroigłowe połączone jest synergicznie z terapią częstotliwościami radiowymi. Ten innowacyjny zabieg remodelingu skóry, polega na punktowej ablacji oraz progresywnej regeneracji skóry poprzez kontrolowane nakłuwanie. W medycynie anti-aging, technologia ta jest jednym z czołowych narzędzi do remodelingu struktur skóry i walki z oznakami jej starzenia. Aparatura za pomocą pinów przesyła częstotliwość radiową na odpowiednią głębokość skóry, dając efekt precyzyjnego podgrzania (ponad 40°C). Mikroigły (0,5-3,0mm) poprzez mikronakłuwanie oraz mechaniczne pobudzenie skóry, stymulują procesy naprawcze (rycina 21).



Rycina 21. Głębokość penetracji skóry przez piny podczas frakcyjnej radiofrekwencji mikroigłowej [21]

Proces remodelingu polega na przewadze procesów syntezy, charakterystycznych dla gojenia się ran po uszkodzeniu skóry, trwa kilka tygodni. Dochodzi do skracania włókien kolagenowych, które w ciągu 28-30 dni zmieniają swoją strukturę na spiralną. Poprzez podgrzanie skóry właściwej dochodzi do rewaskularyzacji tkanek, a w konsekwencji do przywrócenia optymalnego metabolizmu komórkowego. Skóra stymulowana przez ciepło ulega przebudowie, co prowadzi do regeneracji tkanki łącznej. Frakcyjne podgrzanie głębszych warstw skóry z efektem ablacji naskórka nazywane jest sublative resurfacing. Efekt jest zbliżony do lasera frakcyjnego CO₂ przy wyższym bezpieczeństwie terapii [115]. W metodzie tej wyróżnia się igły bez powłoki izolacyjnej, dzięki którym energia emitowana jest na całej jej powierzchni, a uszkodzenie dotyczy naskórka i skóry właściwej. Dłuższy jest czas rekonwalescencji niż w przypadku zabiegu z igłami izolowanymi.

Metoda z igłami z powłoką izolacyjną, w których energia emitowana jest tylko z końcówki, powoduje mniejsze uszkodzenie termiczne i emisję energii tylko w miejsce docelowe. Zabieg nie powoduje wysięków krwi, ponieważ igły mają stożkową budowę i po nakłuciu skóra zasklepia się. Mikronakłucia przyczyniają się do powstawania mikrozakrzepów, które są miejscem tworzenia nowego kolagenu i elastyny. Wytworzone w skórze wewnętrzne ciepło pobudza fibroblasty do syntezy nowego kolagenu, dlatego efekt przebudowy tkanki może być obserwowany nawet parę miesięcy po zakończeniu terapii. Diatermia wymusza neolagenezę, oraz neokolagenezę [117, 178-182] (rycina 22).



Rycina 22. Schemat zmian w skórze po zastosowaniu frakcyjnej radiofrekwencji mikroigłowej [22]

Efekty terapii mikroigłowej można podzielić na natychmiastowe i odległe uaktywniające się z czasem. Bezpośrednio po zabiegu następuje obkurczanie się włókien kolagenowych, zmiany dokonują się w ciągu kolejnych tygodni do trzech miesięcy.

Metoda termicznego uszkodzania włókien kolagenowych przebiega w trzech fazach:

1. Faza intensywnego mikrouszkodzenia termicznego (pierwsze 48-72 godziny); wstępny skurcz włókien kolagenowych, który natychmiast powoduje widoczny efekt wygładzenia obszaru poddanego zabiegowi. Fazie tej towarzyszą niewidoczne dla oka mikroobrzęki oraz uwolnienie chemicznych substancji mediatorowych, odpowiedzialnych za aktywację i utrzymywanie się procesu zapalnego.
2. Faza namnażania się przez podział (3-4 tygodnie); fibroblasty produkują nowe włókna kolagenowe (neokolageneza).
3. Faza ponownego ukształtowania włókien; stopniowe zanikanie komórek zapalnych, całkowite ukształtowanie się i utrwalenie włókien kolagenowych, wzrost siły napięcia oraz pojawienie się nowych włókien elastyny, następuje efekt naprężenia [118].

Obserwowane efekty terapii częstotliwościami radiowymi

Pobudzenie odnowy włókien kolagenowych, zmniejszenie wiotkości skóry, poprzez zwiększenie jej gęstości, wzmocnienie odporności tkanki łącznej, zredefiniowanie konturów twarzy, podniesienie linii czoła. Dodatkowo podniesienie łuku brwiowego, napięcie okolicy oczodołowej, podniesienie opadających powiek, spłylenie „kurzych łapek”, bruzdy nosowo-wargowej, zmniejszenie widoczności „chomików”, spłylenie „zmarszczek marionetki”, podniesienie kącików ust, likwidacja drugiego podbródka, uniesienie policzków, spłylenie powierzchownych blizn potrądzikowych, łagodzenie obrzęków i cieni pod oczami [119,120], redukcja nadpotliwości, przebarwień, tkanki tłuszczowej, ułatwienie drenażu limfatycznego, napięcie zwiotczalej skóry na ramionach, biuście, udach, pośladkach, brzuchu [121,122]. Radiofrekwencja frakcyjna mikroigłowa jest pierwszą skuteczną metodą usuwania rozstępów i blizn głębokich zanikowych, typu „ice peak”. W końcowej fazie zabiegu, możliwe jest zastosowanie zjawiska elektroporacji, czyli utworzenia w skórze kanałów jonowych, które pozwolą na głębsze wnikanie substancji aktywnej z preparatu. Pacjenci poddawani terapii powinni przestrzegać diety, pić dużą ilość wody. Energia nie jest zależna od interakcji chromoforowej, nie ma wpływu na melaninę naskórka, leczenie wszystkich fototypów jest możliwe o każdej porze roku [123-125]. Aby uzyskać długotrwały efekt liftingu, zalecane jest wykonanie ok. 4 zabiegów w miesięcznych odstępach. Po serii wykonuje się zabiegi przypominające, dla utrzymania efektów.

Przeciwwskazania do frakcyjnej radiofrekwencji mikroigłowej

Rozrusznik serca, metalowych i silikonowych implantów w okolicy zabiegowej. Zaburzenia czucia, aktywne stany zapalne skóry, zaburzenia krążenia obwodowego, ciąża, laktacja, gorączka, gruźlica, łuszczyca, ekstrakcja zęba [124]. Nowotwory (do 5 lat po leczeniu), cukrzyca, epilepsja, skłonność do keloidów, choroby autoimmunologiczne, miastenia, reumatoidalne zapalenie stawów, twardzina, gościec mięśniowo-ścięgnisty, łysienie plackowate, AZS, WZW, zakrzepica, niska krzepliwość krwi, nadciśnienie, żylaki, choroby krwi, spożywanie alkoholu przed zabiegiem, pompa insulinowa, terapia retinoidami, opryszczka, wypełniacze, toksyna botulinowa, osocze, nici PDO (do pół roku igły 0,5mm) [123]. Skuteczność tej metody potwierdzają prowadzone badania nad procedurami zabiegowymi. Poszukiwane są małoinwazyjne metody walki ze starzeniem się skóry o czym świadczą publikacje naukowe [126,173-178]. Bernstein i wsp. dokonali porównania radiofrekwencji z kriolipolizą, ultradźwiękami, laseroterapią na dużej grupie badanej, a terapia częstotliwościami radiowymi okazała się najbardziej skuteczna [184].

6. Założenia i cele badawcze

Celem przeprowadzonych badań było określenie stanu skóry twarzy po terapii częstotliwościami radiowymi oraz ocena trwałości uzyskanych zmian, poprzez realizację celów szczegółowych:

1. Ocenę zmian stopnia nawodnienia naskórka (korneometria) oraz pomiar funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka (tewametria) w czasie 4-miesięcznej terapii częstotliwościami radiowymi.
2. Porównanie skuteczności terapii częstotliwościami radiowymi metodą radiofrekwencji monopolarnej z metodą radiofrekwencji bipolarnej, w obszarze skóry twarzy u kobiet, w wybranych grupach wiekowych.
3. Ocena subiektywna trwałości uzyskanych efektów, w wybranych grupach wiekowych, po 4-miesięcznej terapii częstotliwościami radiowymi metodą monopolarną oraz metodą bipolarną, na podstawie przeprowadzonej ankiety autorskiej.

7. Materiały i metody badawcze

7.1. Opis grupy badanej

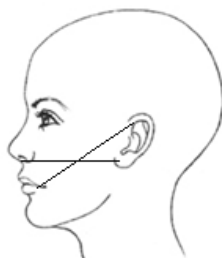
Badaniu poddano 150 kobiet deklarujących dobry ogólny stan zdrowia, ze skórą klinicznie zdrową o fototypie II, III i IV w skali Fitzpatrick'a. Probandki do grupy przydzielane były losowo. Pomiar kontrolny stanowiły badania przed wykonaniem aplikacji częstotliwościami radiowymi. Badana populacja podzielona została na dwie grupy:

1. RFM: grupa 75 kobiet poddana terapii częstotliwością radiową metodą monopolarną, w której wyróżniono grupy wiekowe (po 15 kobiet): I 20-29 lat, II 30-39 lat, III 40-49 lat, IV 50-59 lat, V 60-69 lat. Wyniki zapisywane były przed i po zabiegu. Probandki poddane były pomiarowi pierwszemu (t0) przed aplikacją RFM oraz po zabiegu. Kolejne pomiary w tym samym schemacie dokonane zostały po miesiącu (t1), oraz po czterech miesiącach (t2) od pierwszego badania.
2. RFB: grupa 75 kobiet poddana terapii częstotliwością radiową metodą bipolarną, w której wyróżniono grupy wiekowe (po 15 kobiet): I 20-29 lat, II 30-39 lat, III 40-49 lat, IV 50-59 lat, V 60-69 lat. Wyniki zapisywane były przed i po zabiegu. Probandki poddane były pomiarowi pierwszemu (t0) przed aplikacją RFM oraz po zabiegu. Kolejne pomiary w tym samym schemacie dokonane zostały po miesiącu (t1) oraz po czterech miesiącach (t2) od pierwszego badania.

7.2. Metody badawcze

Badania prowadzono w latach 2017-2018, po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, uchwałą nr 1091/16 (załącznik 1). Probandki biorące udział w badaniach uczestniczyły w nich dobrowolnie, z możliwością zrezygnowania w każdej chwili. Badania nie miały charakteru inwazyjnego, a probantki zostały poinformowane o szczegółach zabiegu, podpisywały formularz świadomej zgody na udział w badaniu (załącznik 2). Założono kartę badania probanta (załącznik 3), która była uzupełniana przed wykonaniem pierwszego zabiegu. Znalazły się w niej informacje o zastosowanej metodzie, numerze probanta, dacie badań, warunkach otoczenia, wieku probantek, wcześniej przebytych chorobach. Służyła ona do przeprowadzenia wnikliwego wywiadu kosmetycznego w celu diagnostyki i wykluczenia ewentualnych przeciwwskazań. Pozyskane dane osobowe zostały poufne. Przedstawiono protokół postępowania (załącznik 4), wypełniono ankietę autorską (załącznik 5).

Pomiary przeprowadzono w tych samych warunkach otoczenia, temperatury ($20-22^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$) i wilgotności względnej powietrza ($45-60\% \pm 5\%$). Pomiędzy zabiegiem a pomiarem, zachowano 10 minutowe przerwy po aplikacji RF, w celu wyrównania temperatury skóry. Czas trwania zabiegu i pomiaru nie przekraczał 40 minut. Sonda przykładana była pionowo całą powierzchnią do policzka, przy jednoczesnej kontroli stabilności i nacisku. Badanie wykonano w tych samych lokalizacjach na policzkach zgodnie z przedstawionym schematem (rycina 23).

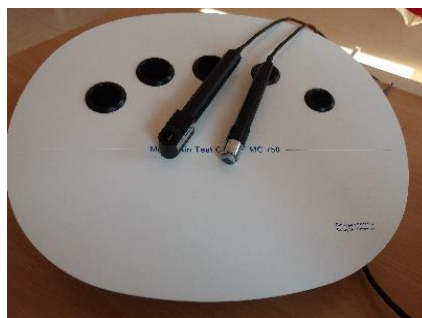


Rycina 23. Schemat wyznaczenia punktów pomiarowych na twarzy [opracowanie własne]

Zrezygnowano z pomiaru nawilżenia dokonywanego poniżej kości jarzmowej. Brak podparcia kostnego dla sondy mógł powodować, że uzyskiwane wyniki nie były powtarzalne [127]. Ochotniczkom zalecono rezygnację z makijażu w dniu pomiaru oraz nie stosowanie kremów oraz preparatów myjących na dwie godziny przed badaniem. Skóra probantek była aklimatyzowana w celu uspokojenia cyrkulacji krwi by ograniczyć wzmożone pocenie skóry. Nie wykonywano pomiarów w bezpośrednim świetle słonecznym oraz w świetle lampy. Probantki zostały poddane terapii częstotliwościami radiowymi metodą monopolarną (RFM) oraz metodą bipolarną (RFB).

7.2.1. Tewametria - pomiar funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka

Oceny parametrów czynnościowych skóry twarzy dokonano za pomocą korneometrii oraz tewametrii, urządzeniem Multi Skin Test Center MC 750 firmy Courage & Khazaka Electronic (rycina 24).



Rycina 24. Urządzenie Multi Skin Test Center MC 750 firmy Courage & Khazaka Electronic wraz z sondami do pomiaru parametrów czynnościowych skóry [opracowanie własne]

Pomiaru stopnia uszkodzenia bariery naskórkowej dokonano w oparciu o wyznaczenie TEWL który jest uznanym wskaźnikiem świadczącym o zaburzeniach w zakresie SC. Dzięki rejestracji różnicy gęstości pary wodnej została wyznaczona wartość TEWL, wyrażona w $\text{g/m}^2/\text{h}$. Głowica tewametru zaopatrzona w dwie pary czujników temperatury i wilgotności dokonywała pomiaru gradientu pomiędzy nimi (rycina 25).

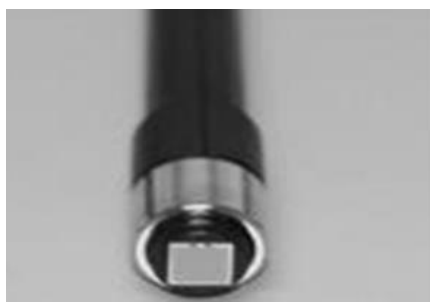


Rycina 25. Sonda do pomiaru funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka TEWL MC 750 Courage & Khazaka [opracowanie własne]

Zgodnie z wytycznymi producenta wartości TEWL w przedziale $0\text{-}25\text{g/m}^2/\text{h}$ odpowiadały wartościom prawidłowym, a powyżej $30\text{g/m}^2/\text{h}$ świadczyły o uszkodzeniu bariery naskórkowej. Sonda pomiarowa opierała się płasko na skórze ze stałym, naciskiem. Przycisk sondy włączał funkcję rozpoczynającą badanie (15s). Sonda nie była odrywana od obszaru pomiarowego ani dociskana, co mogłoby powodować zakłócenie cyrkulacji krwi.

7.2.2. Korneometria - pomiar nawodnienia warstwy rogowej naskórka

Przeprowadzone badanie korneometryczne miało na celu określenie zawartości wody w warstwie rogowej naskórka za pomocą metody pojemnościowej. Krótki czas pomiaru (1s) zapewniał brak pocenia się, co mogłoby spowodować zaburzenie wyników pomiarów. Niewielka masa sondy pozwalała na utrzymanie stałego nacisku oraz powtarzalne wyniki (rycina 26).



Rycina 26. Sonda do korneometrii MC 750, Courage & Khazaka [opracowanie własne]

7.2.3. Metody analizy statystycznej

Do przeprowadzenia analizy statystycznej zastosowano test Grubbsa, testujący występowanie wartości odstających ($\pm 3SD$), zgodność z rozkładem normalnym testem Shapiro-Wilka, natomiast założenia sferyczności testem Mauchley'a. Mimo niewielkich odstępstw od rozkładu normalnego badanych zmiennych, po weryfikacji homogeniczności wariancji w podgrupach w analizie statystycznej zastosowano model ANOVA (ang. analysis of variance), z pomiarami powtarzanymi. W badaniach zastosowano analizę wariancji służącą do badania obserwacji, które zależą od jednego lub wielu działających równocześnie czynników. Metoda ta wyjaśnia, z jakim prawdopodobieństwem wyodrębnione czynniki mogą być powodem różnic między obserwowanymi średnimi grupowymi. Wielkość efektu określono za pomocą η^2 cząstkowe. Obliczono również moc obserwowaną dla poszczególnych efektów. Istotności różnic między parami średnich weryfikowano testem Newman-Keulsa, który służy porównywaniu wszystkich możliwych par średnich. Dla wybranych zmiennych obliczono współczynniki korelacji liniowej Pearsona (r_{xy}), określający poziom zależności liniowej między zmiennymi losowymi. Analizy statystyczne umożliwiające przetestowanie postawionych hipotez badawczych przeprowadzono w pakiecie Statistica (version 10. www.statsoft.com. Statsoft, 2011). Wnioskowanie statystyczne oparto o wyliczony p-value porównując go z przyjętym w badaniu poziomem istotności $\alpha=0,05$. Parametry statystyczne zastosowane w analizie:

F – rozkład, wynik analizy wariancji,

M – średnie arytmetyczne różnicy pomiarów przed i po zabiegu,

N – liczebność grupy badanej,

η^2 cząstkowe – wielkość efektu,

p-value – poziom prawdopodobieństwa,

($\alpha=0,05$) – moc obserwowana,

($\pm 95\%$ PU) – przedział ufności.

7.2.4. Ankieta autorska

Po zakończeniu badań probantki wypełniały ankietę autorską która służyła do subiektywnej oceny trwałości uzyskanych efektów 4- miesięcznej terapii częstotliwościami radiowymi, w wybranych grupach wiekowych, metodą monopolarną i metodą bipolarną. Pozwoliła określić dla grupy badanej dane demograficzne, socjologiczne określające tryb życia, sposób dotychczasowej pielęgnacji twarzy, wcześniej stosowane zabiegi kosmetyczne, fotoprotekcję. Tekst ankiety został zamieszczony w załączniku nr 5.

7.3. Metodyka zabiegowa i pomiarowa

7.3.1. Protokół zabiegowy radiofrekwencji monopolarnej

Podczas terapii częstotliwościami radiowymi metodą monopolarną zastosowano aparat Radio Frequency BN-300 firmy Beauty System (rycina 27). Probandce założono elektrodę bierną z wilgotnym podkładem pod prawym barkiem. Na twarz zaaplikowano żel sprzęgający. Dobrano i zdezynfekowano głowicę, wybrano ustawienia. Probandki były informowane o odczuciach podczas zabiegu (ciepło).



Rycina 27. Urządzenie Radio Frequency BN-300 firmy Beauty System [opracowanie własne]

Gdy temperatura zbliżyła się do pożądanej, moc wyjściową zmniejszono do poziomu zapewniającego utrzymanie stałej temperatury. W okolicy przebiegu nerwów i kości aplikowano mniejszą energię. Nie przytrzymywano głowicy w jednym miejscu w celu uniknięcia poparzenia.

Zastosowano następujące parametry zabiegowe.

- częstotliwość: 1MHz-5MHz,
- moc: 3W/cm²,
- średnica głowicy: 2cm,
- temperatura emitowana: 40°C,
- fala: stała,
- czas aplikacji: 15 minut.

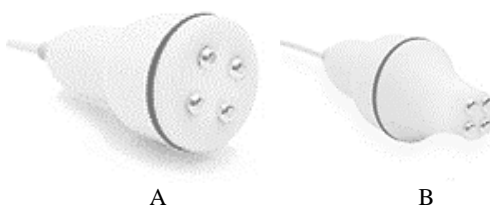
Płynnymi, spiralnymi ruchami opracowano obszar czoła, oczu, policzków, bruzdy nosowo - wargowej, podbródka, zuchwy. Po zakończeniu dawkowania pojawiał się rumień, utrzymujący się kilka minut. Ponownie wykonano pomiary tewametryczne i korneometryczne.

7.3.2. Protokół zabiegowy radiofrekwencji bipolarnej

Podczas terapii częstotliwościami radiowymi metodą bipolarną zastosowano kombajn kosmetyczny firmy Mimarii. Zastosowano głowicę przeznaczoną do zabiegów wykonywanych na partiach twarzy, do niwelowania bruzd i zmarszczek (rycina 29).



Rycina 28. Kombajn kosmetyczny firmy Mimarii z głowicami do radiofrekwencji bipolarnej [opracowanie własne]



Rycina 29. Głowica na okolice twarzy (A), głowica na okolice oczu (B) [opracowanie własne]

Zastosowano następujące parametry zabiegowe.

- częstotliwość: 1 MHz-5MHz,
- moc: okolice oka 1 W/cm²-42W/cm², twarz 1 W/cm²-64W/cm²,
- średnica głowicy: 2cm,
- temperatura: 40°C,
- fala: stała,
- aplikacja: 10 minut na głowicy ϕ 40mm, 5 minut na głowicy ϕ 20mm na okolicę oczu.

W przypadku konieczności aplikacji większej ilości żelu, robiono to na wyłączonych głowicach. Ruchy głowicy były adekwatne jak w metodzie monopolarnej (rycina 30).



Rycina 30. Wykonanie zabiegu radiofrekwencji bipolarnej [opracowanie własne]

8. Wyniki badań

Wyniki badań zostały opracowane w odniesieniu do wcześniej założonych celów.

1. Ocena zmian stopnia nawodnienia naskórka (korneometria) oraz funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka (tewametria) w czasie 4-miesięcznej terapii częstotliwościami radiowymi.
2. Porównanie skuteczności terapii częstotliwościami radiowymi metodą monopolarną z metodą bipolarną w obszarze skóry twarzy u kobiet, w wybranych grupach wiekowych.
3. Ocena subiektywna trwałości uzyskanych efektów, w wybranych grupach wiekowych, po 4-miesięcznej terapii częstotliwościami radiowymi metodą monopolarną oraz metodą bipolarną, na podstawie przeprowadzonej ankiety autorskiej.

8.1. Ocena tewametryczna funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka

Pomiaru stopnia uszkodzenia bariery naskórkowej dokonano w oparciu o wyznaczenie TEWL przed i po zabiegu, następnie z różnicy między tymi pomiarami oszacowano, czy w danym badaniu po zabiegu nastąpiło obniżenie (osłabienia bariery – wartości ujemne) czy wzrost (wzmocnienia bariery – wartości dodatnie).

Jeśli TEWL przed zabiegiem wynosił 2,2, a po zabiegu 2,0 - odnotowano wzmocnienie bariery naskórka. Umożliwiło to ocenę zmian w jego funkcjonowaniu w zależności od czasu trwania oraz porównanie obu terapii. Odnotowano istotny efekt grupy wiekowej oraz interakcję między typem terapii (RFM i RFB) a czasem terapii (rozpoczęcie badania - 0, po 1-szym miesiącu i po 4-tym miesiącu od rozpoczęcia terapii). Poziom prawdopodobieństwa p-value porównano z przyjętym w badaniu poziomem istotności $\alpha=0,05$ (tabela 3).

Tabela 3. TEWL przed zabiegiem oraz po zabiegu - ANOVA z pomiarami powtarzanymi

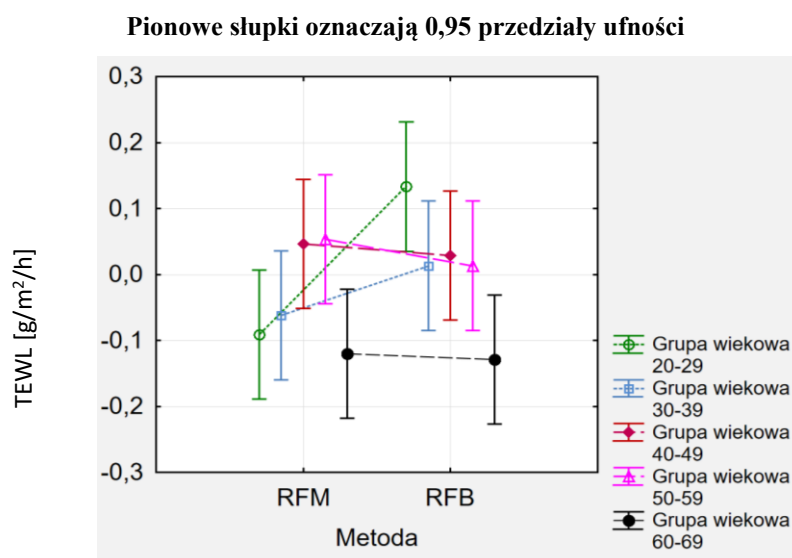
Analizowane parametry	F	p	η^2 cząstkowe	Moc obserwowana ($\alpha =0,05$)
Metoda	2,22	0,1388	0,02	0,32
Grupa wiekowa	3,75	0,0062	0,10	0,88
Metoda*Grupa wiekowa	2,40	0,0528	0,06	0,68
Miesiąc pomiaru	0,02	0,9775	<0,01	0,05
Miesiąc pomiaru*Metoda	5,81	0,0034	0,04	0,87
Miesiąc pomiaru *Metoda*Grupa wiekowa	1,27	0,2615	0,03	0,58

U osób młodych z przedziału wiekowego 20-29 lat oraz z przedziału 40-49 lat bez względu na miesiąc pomiaru (czas trwania terapii) i typ zabiegu odnotowywano przeciętnie wzmocnienie bariery naskórka (tabela 4, rycina 31).

Tabela 4. Średnie arytmetyczne (*M*) różnicy pomiarów metodą RFM a RFB (*M*) oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od grupy wiekowej

Grupa wiekowa	M	-95% PU	+95% PU	N
20-29	0,02A	-0,05	0,09	30
30-39	-0,02b	-0,09	0,04	30
40-49	0,04C	-0,03	0,11	30
50-59	0,03D	-0,04	0,10	30
60-69	-0,12AbCD	-0,19	-0,06	30

Średnie oznaczone literami AA, CC, DD itp. różniły się przy $p < 0,01$, a literami bb – przy $p < 0,05$ (Test Newman-Keulusa)



Rycina 31. Średnie efekty terapii w grupach wiekowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB

Po zastosowanych metodach RFM oraz RFB stwierdzono wzmocnienie naskórka, co może wskazywać na wzmocnienie jego struktur oraz skóry właściwej poprzez stymulację znajdujących się w nich włókien kolagenowych. Wzmocnienie bariery naskórka i poprawa jego nawodnienia prawdopodobnie przyczyniły się do neokolagenezy, a tym samym do przemodelowania i zagęszczenia struktur, spłycenia zmarszczek. Jednak wizualna ocena wskazuje, że osoby młodsze (20-39 lat) większe korzyści odnoszą z terapii RFB (rycina 31). Niski TEWL obserwowano w grupie wiekowej II (30-39 lat) co mogło być spowodowane prawidłowym nawodnieniem. W grupie wiekowej I (20-29 lat) i grupie wiekowej II (30-39 lat) dla metody monopolarnej, która działa głębiej na struktury naskórka, obserwowano znaczny wzrost TEWL co może wskazywać że metoda ta nie jest korzystna dla osób młodych (jak i dla starszych), może powodować zbyt intensywne parowanie wody z głębszych warstw skóry. Niskie wartości zawartości wody w naskórku w grupie wiekowej V (60-69 lat) dla obydwu metod przeprowadzonej terapii (RFM oraz RFB) mogły mieć związek z fizjologicznym obniżeniem jej zawartości w okresie pomenopauzalnym. Czas wykonywania pomiaru nie różnicował istotnie wyników (tabela 5).

Tabela 5. Średnie arytmetyczne (M) różnicy pomiarów oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od czasu trwania terapii metody RFM oraz RFB

Miesiąc pomiaru	M	-95% PU	+95% PU	N
0	-0,01	-0,07	0,04	150
1	-0,01	-0,05	0,04	150
4	-0,01	-0,07	0,04	150

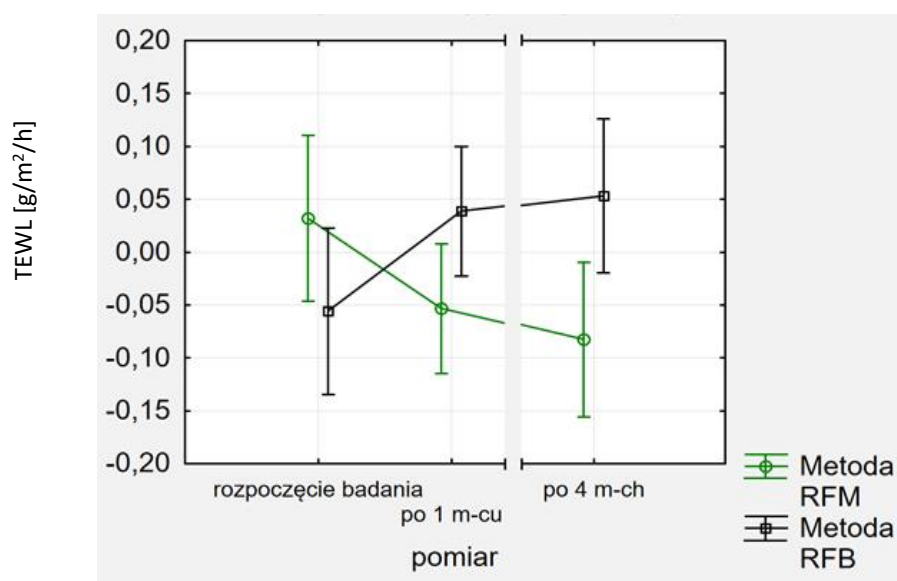
Odnotowano istotną statystycznie różnicę między metodą zabiegu a czasem trwania terapii (tabela 6).

Tabela 6. Średnie arytmetyczne (M) różnicy pomiarów oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od metody RFM, RFB i czasu trwania terapii

Metoda	Miesiąc pomiaru	M	-95% PU	+95% PU	N
RFM	0	0,03a	-0,05	0,11	75
	1	-0,05b	-0,11	0,01	75
	4	-0,08acD	-0,16	-0,01	75
RFB	0	-0,06e	-0,13	0,02	75
	1	0,04c	-0,02	0,10	75
	4	0,05bDe	-0,02	0,13	75

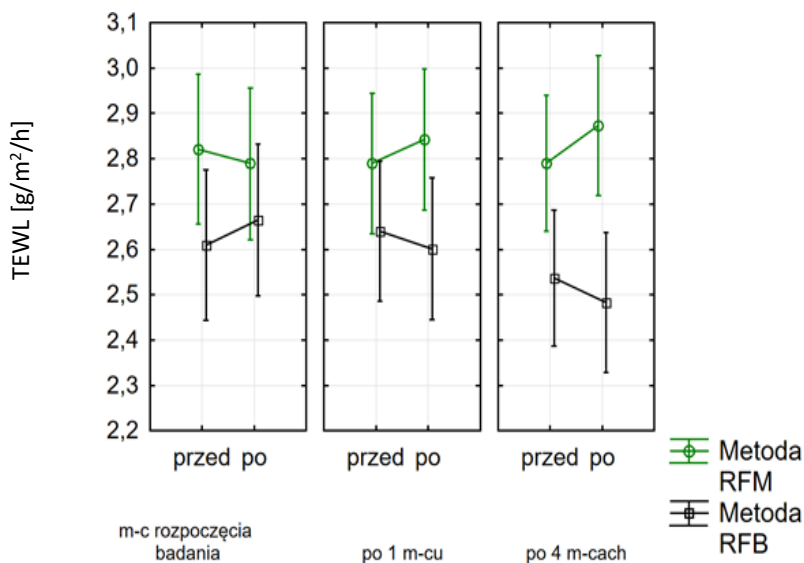
aa, bb, cc – $p < 0,05$; DD – $p < 0,01$ (test NIR)

W terapii RFM w początkowym badaniu uzyskano poprawę parametrów skóry, średnio 0,03 jednostki, natomiast w kolejnych punktach pomiaru, wraz z trwaniem terapii, parametry skóry się pogarszały – średnio -0,05 i -0,08. Odmiennie kształtowały się efekty terapii metodą RFB, po początkowym pogorszeniu (-0,06), następowała poprawa – 0,04 do 0,05 w ostatnim badaniu. Parametry naskórka były gorsze u osób poddanych terapii RFM badanych po 4-tym miesiącu jej prowadzenia w porównaniu do wyników terapii RFB szacowanych zarówno po 1-szym miesiącu terapii, jak i na jej zakończenie (rycina 32, rycina 33).



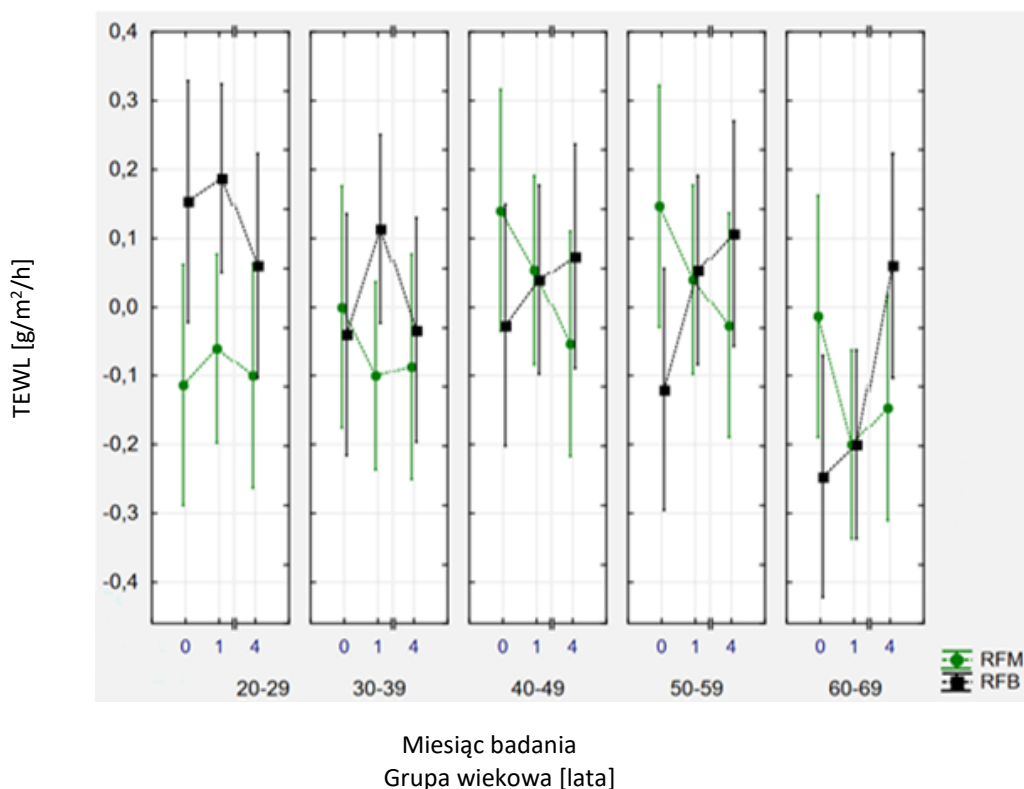
Rycina 32. Średnie efekty terapii w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB

Obserwowano zwiększenia nawodnienia naskórka po zastosowaniu metody bipolarnej.



Rycina 33. Średnie wyniki pomiaru TEWL w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB

Po 4-miesięcznej terapii częstotliwościami radiowymi metodą RFM oraz metodą RFB obserwowano istotną zależność pomiędzy pomiarem TEWL a zastosowaną metodą. Zmniejszenie wartości TEWL w przypadku metody bipolarnej wskazuje, że metoda ta jest bardziej odpowiednia dla grup wiekowych IV (40-49 lat) oraz V (50-59 lat). W tych grupach wiekowych zabiegi poprawy napięcia skóry są najczęściej wykonywane (rycina 34).



Rycina 34. Średnie efekty w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj terapii metodą RFM, RFB i grupę wiekową

8.2. Ocena korneometryczna nawodnienia warstwy rogowej naskórka

Pomiaru zawartości wody w warstwie rogowej naskórka dokonano w oparciu o korneometrię przed i po zabiegu, następnie z różnicy między pomiarem późniejszym a wcześniejszym oszacowano, czy po zabiegu nastąpiło obniżenie zawartości wody (wartości ujemne) czy wzrost (wartości dodatnie). I tak np.: jeśli pomiar korneometryczny (Kor) przed zabiegiem wynosił 32,2; a po 34,92 odnotowano wzrost nawodnienia naskórka o 2,7 jednostek. Odnotowano istotny wpływ zarówno metody, grupy wiekowej, jak i miesiąca pomiaru na średnie różnice w nawodnieniu naskórka po i przed zabiegiem (tabela 7).

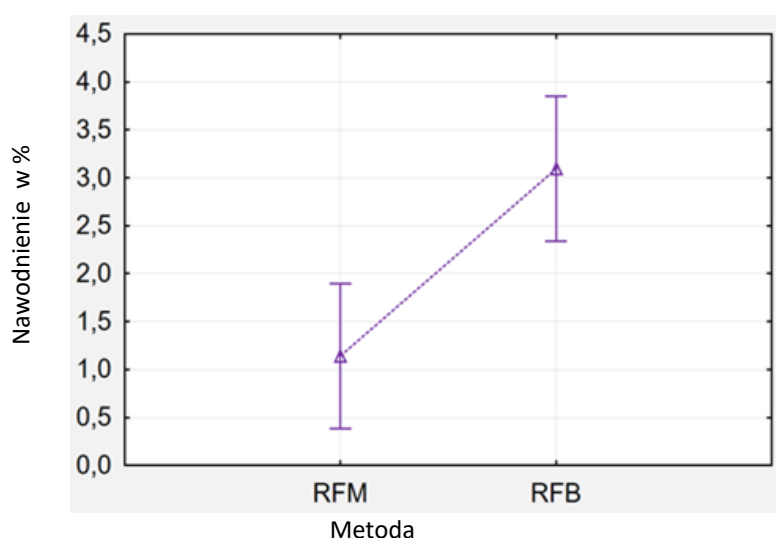
Tabela 7. Pomiar korneometryczny po zabiegu – pomiar korneometryczny przed zabiegiem - ANOVA z pomiarami powtarzanymi

Analizowane parametry	F	p	η^2 cząstkowe	Moc obserwowana ($\alpha=0,05$)
Metoda	13,08	0,0004	0,09	0,95
Grupa wiekowa	2,63	0,0368	0,07	0,72
Metoda*Grupa wiekowa	0,77	0,5474	0,02	0,24
Miesiąc pomiaru	3,32	0,0377	0,02	0,63
Miesiąc pomiaru*Metoda	1,46	0,2341	0,01	0,31
Miesiąc pomiaru *Metoda*Grupa wiekowa	1,84	0,0690	0,05	0,78

Metoda miała istotny wpływ na wyniki nawilżania. Wyższe efekty uzyskiwano przy metodzie RFB, niezależnie od czasu trwania terapii i grupy wiekowej (tabela 8, rycina 35).

Tabela 8. Średnie arytmetyczne (M) różnicy pomiarów oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od terapii metodą RFM, RFB, w trakcie 4-miesięcznej terapii

Metoda	M	-95% PU	+95% PU	N
RFM	1,14	0,38	1,90	75
RFB	3,10	2,34	3,85	75



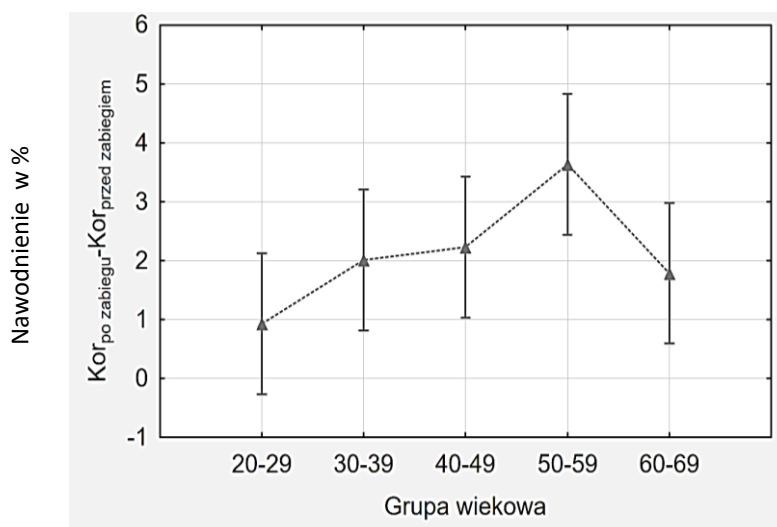
Rycina 35. Średnie efekty działania terapii częstotliwościami radiowymi w zależności od metody RFM oraz RFB

Stosowana metoda, w tym przypadku RFB, wpływała istotnie na wzrost nawodnienia struktur naskórka we wszystkich badanych grupach wiekowych. Grupa wiekowa wpływała istotnie na efekty nawilżające – najwyższe różnice po i przed zabiegiem odnotowano w grupie III (50-59 lat), a najniższe w grupie I (20-29 lat) (tabela 9, rycina 36 i rycina 37). Istotnie różniła się średnia uzyskana w grupie najmłodszej (najniższa poprawa) z grupą IV (50-59 lat), gdzie notowano najwyższą różnicę.

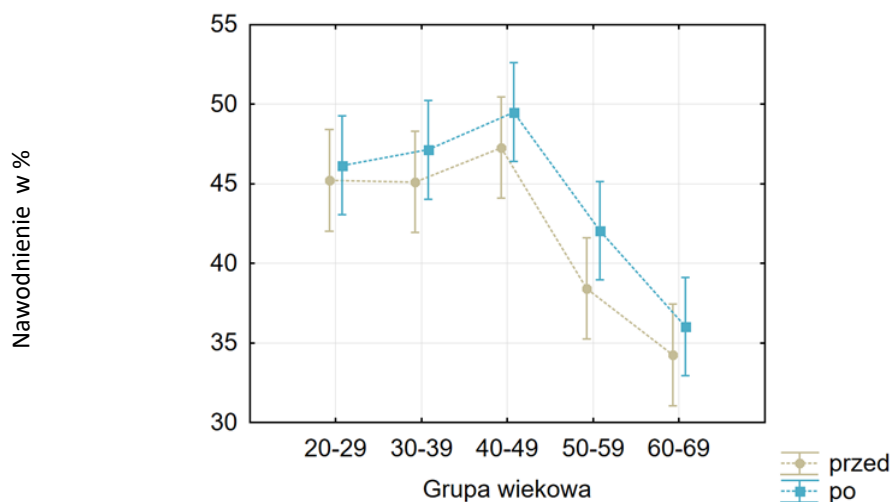
Tabela 9. Pomiar korneometryczny po zabiegu - pomiar korneometryczny przed zabiegiem - TEWL przed zabiegiem - TEWL po zabiegu - średnie arytmetyczne (M) oraz 95% przedział ufności w zależności od grupy wiekowej

Grupa wiekowa	M	-95% PU	+95% PU	N
20-29	0,93a	-0,27	2,12	30
30-39	2,01	0,81	3,21	30
40-49	2,23	1,04	3,43	30
50-59	3,64a	2,44	4,83	30
60-69	1,79	0,59	2,98	30

aa – $p < 0,05$ (test N-K)



Rycina 36. Średnie efekty działania metod RFM, RFB w grupach wiekowych podczas 4 miesięcznej terapii

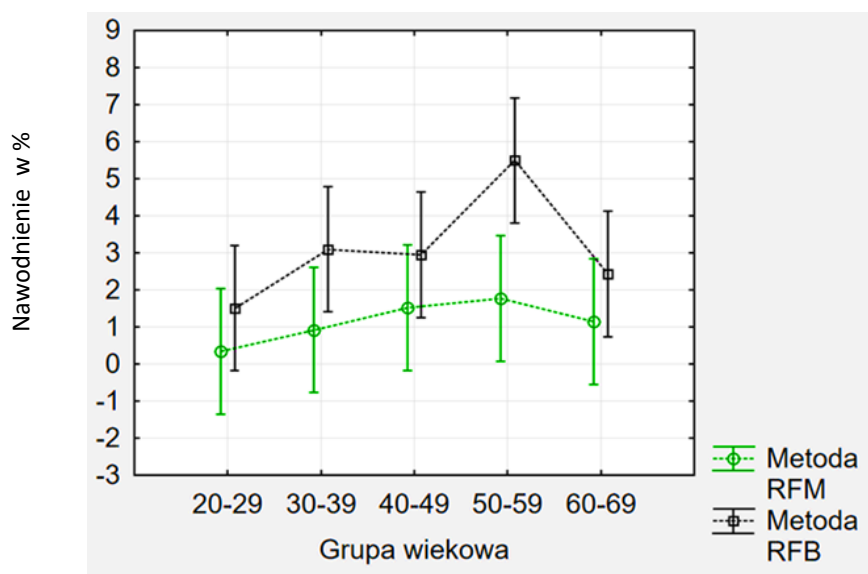


Rycina 37. Średnie wyniki pomiaru korneometrycznego w grupach wiekowych mierzone przed i po zabiegu

Nie odnotowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy metodą a grupą wiekową (tabela 10, rycina 38).

Tabela 10. Pomiar korneometryczny po zabiegu – pomiar korneometryczny przed zabiegiem – średnie arytmetyczne (M) oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od metody i grupy wiekowej

Metoda	Grupa wiekowa	M	-95% PU	+95% PU	N
RFM	20-29	0,34	-1,3	2,04	15
	30-39	0,92	-0,8	2,61	15
	40-49	1,52	-0,2	3,21	15
	50-59	1,78	0,1	3,47	15
	60-69	1,14	-0,5	2,83	15
RFB	20-29	1,51	-0,2	3,20	15
	30-39	3,10	1,4	4,79	15
	40-49	2,95	1,3	4,64	15
	50-59	5,50	3,8	7,19	15
	60-69	2,43	0,7	4,13	15



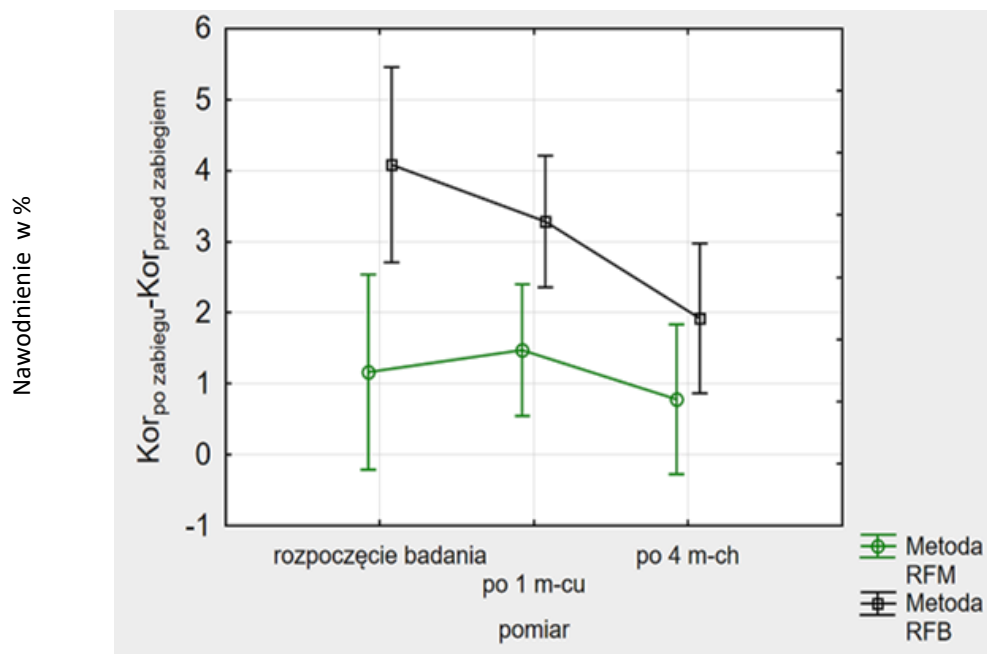
Rycina 38. Średnie efekty działań terapii w grupach wiekowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB

Różnice w nawilżeniu skóry po i przed pomiarem zmniejszały istotnie się w czasie obserwacji. Początkowo różnica wynosiła przeciętnie 2,63 jednostki, a po 4 miesiącach jedynie 1,35 (tabela 11). Wraz z trwaniem terapii zwiększał się początkowy poziom nawilżenia, co świadczy o skuteczności danej terapii (rycina 39).

Tabela 11. Pomiar korneometryczny po zabiegu – pomiar korneometryczny przed zabiegiem - średnie arytmetyczne (M) oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od czasu trwania terapii

Miesiąc pomiaru	M	-95% PU	+95% PU	N
0	2,63a	1,65	3,60	150
1	2,38	1,72	3,03	150
4	1,35a	0,60	2,10	150

aa – $p < 0,05$ (test N-K)



Rycina 39. Średnie efekty działania terapii w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB

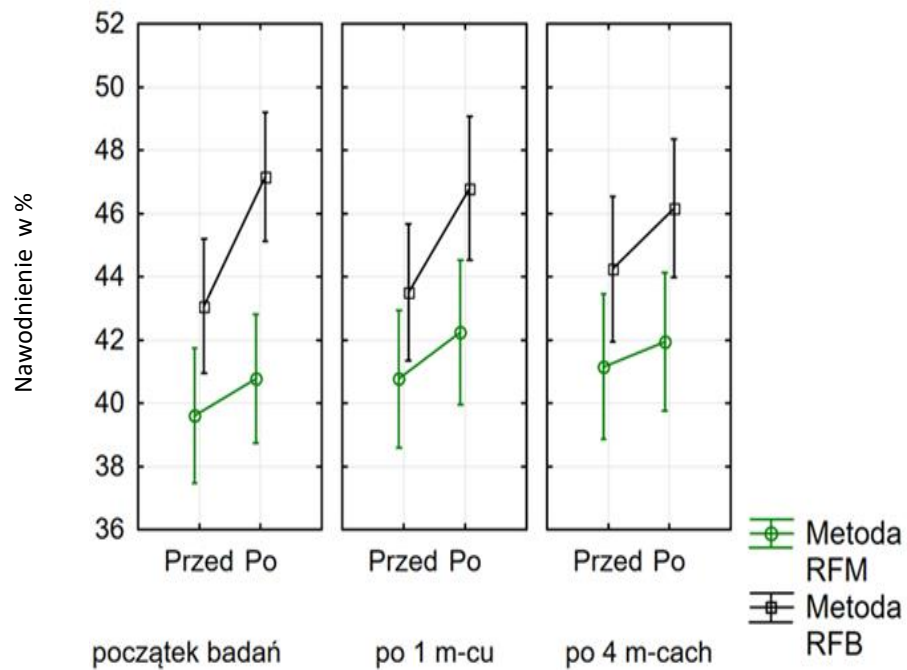
Miarą efektu terapii częstotliwościami radiowymi jest różnica pomiędzy pomiarem korneometrycznym po zabiegu a pomiarem korneometrycznym przed zabiegiem.

Tabela 12. Pomiar korneometryczny po zabiegu - pomiar korneometryczny przed zabiegiem - średnie arytmetyczne (M) oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od metody RFM oraz RFB i czasu trwania terapii

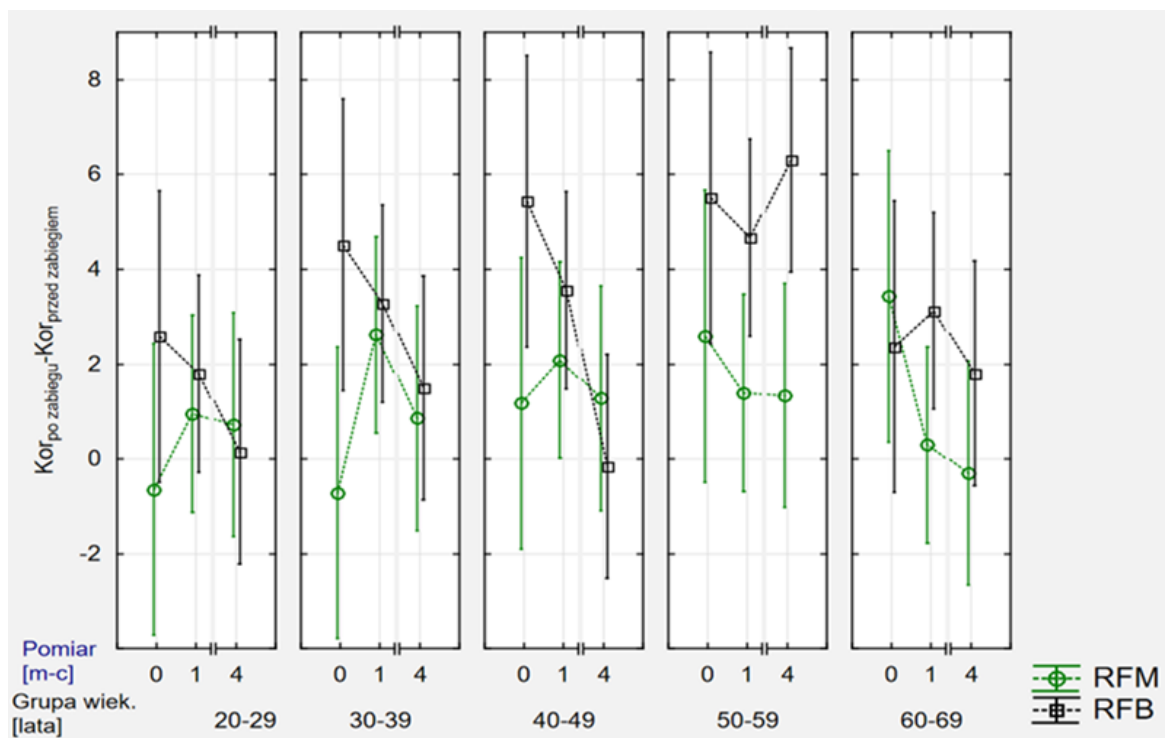
Metoda	Miesiąc pomiaru	M	-95% PU	+95% PU	N
RFM	0	1,17	-0,21	2,54	75
	1	1,47	0,54	2,40	75
	4	0,78	-0,28	1,84	75
RFB	0	4,08	2,71	5,46	75
	1	3,29	2,36	4,21	75
	4	1,92	0,86	2,98	75

Po przeprowadzeniu eksperymentu własnego obserwowano zwiększenie nawodnienia struktur naskórka po stosowaniu terapii częstotliwościami radiowymi dla obu metod. Najlepsze efekty zauważono przedziale wiekowym III (40-49 lat) i IV (50-59 lat).

W chwili rozpoczęcia badania odnotowano wzrost poziomu nawilżenia u osób po terapii RFB po miesiącu (t1), wraz z czasem terapii różnica po i przed badaniem malała (tabela 12, rycina 40 i rycina 40a).



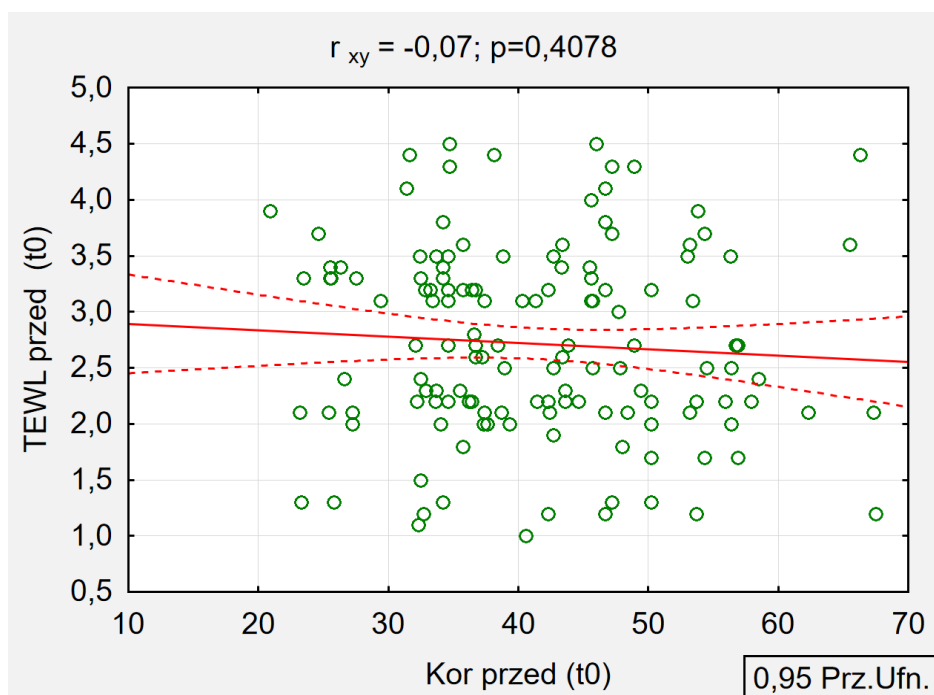
Rycina 40. Średnie wyniki pomiaru korneometrycznego w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB



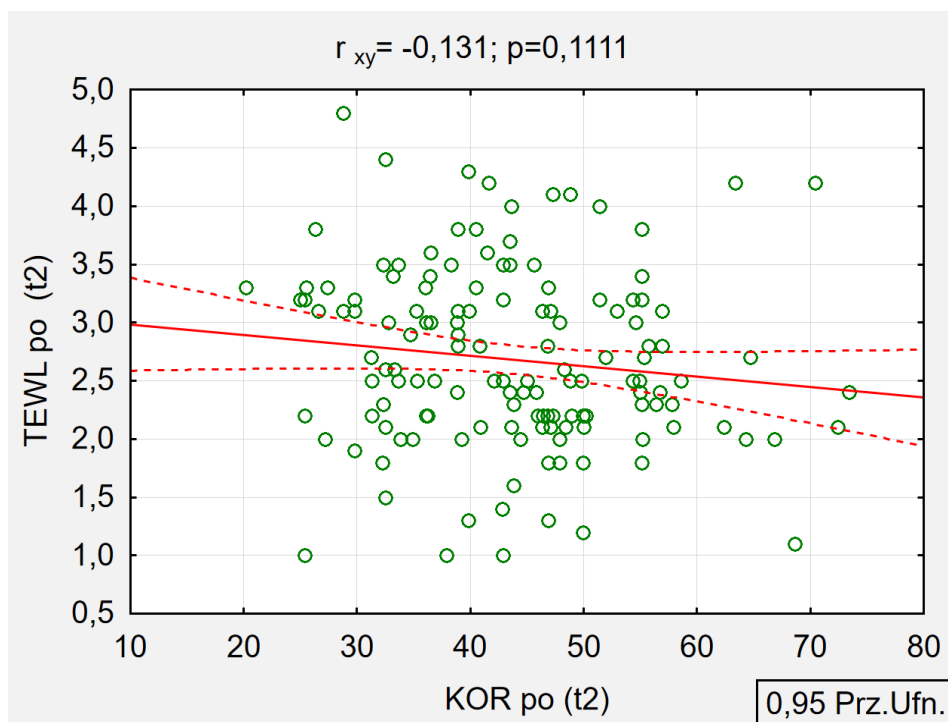
Rycina 40a. Średnie efekty pomiaru korneometrycznego w badanych punktach czasowych, grupach wiekowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB

Efekt napięcia skóry twarzy po trwającej 4 miesiące terapii nie spełniał oczekiwanych długotrwałych rezultatów. Zmiany obserwowane w grupie wiekowej V (60-69 lat), były natychmiastowe lecz nietrwale, zarówno dla metody monopolarnej jak i metody bipolarnej.

Nie odnotowano związku między wielkością przesnaskórkowej utraty wody (tewametrią) a stopniem nawodnienia naskórka (korneometrią) przed rozpoczęciem i po zakończeniu badań (rycina 41, rycina 42).

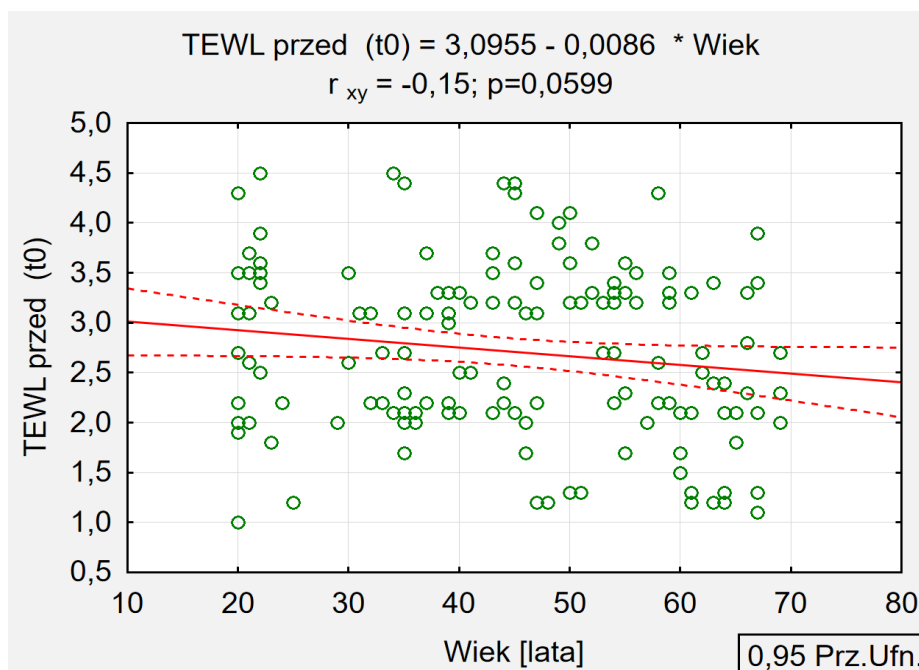


Rycina 41. Związek między pomiarami TEWL i pomiarami korneometrycznymi wykonanymi przed rozpoczęciem terapii



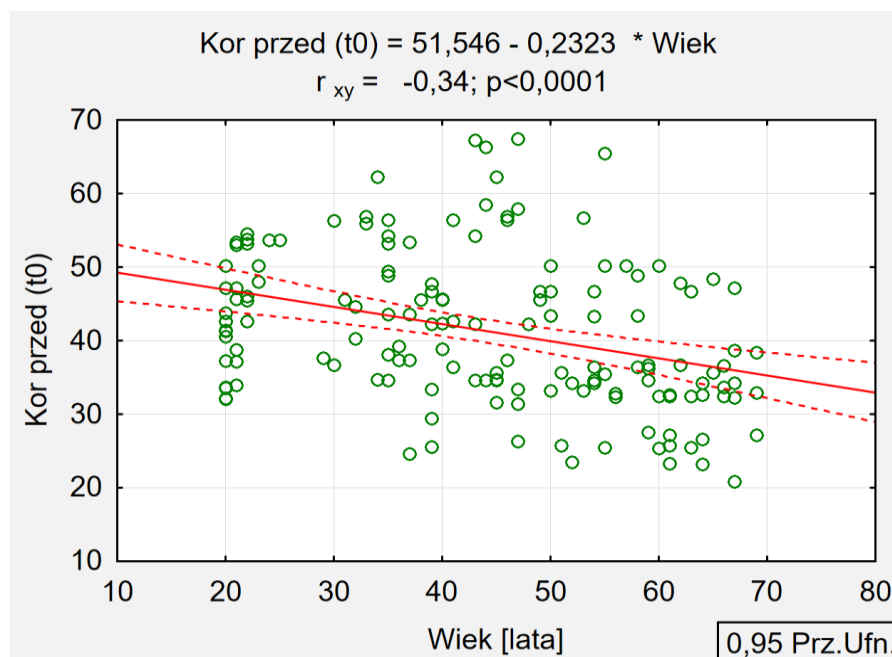
Rycina 42. Związek między pomiarami TEWL i pomiarami korneometrycznymi wykonanymi po 4 miesiącach terapii

Odnotowano istotny, dodatni i słaby związek między wielkością przesnaskórkowej utraty wody (tewametria) a miesiącem badania przed rozpoczęciem zabiegów. Natomiast nie potwierdzono związku między TEWL a wiekiem probantek (rycina 43).



Rycina 43. Związek między pomiarami TEWL przed rozpoczęciem terapii a wiekiem probantek

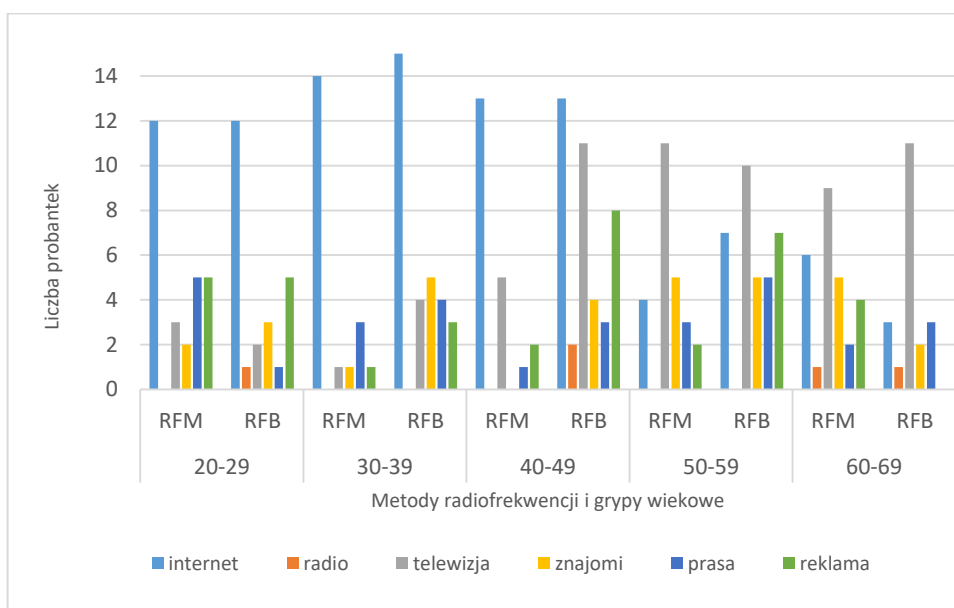
Korelacja między wynikami pomiaru korneometrycznego z wiekiem była istotna (rycina44).



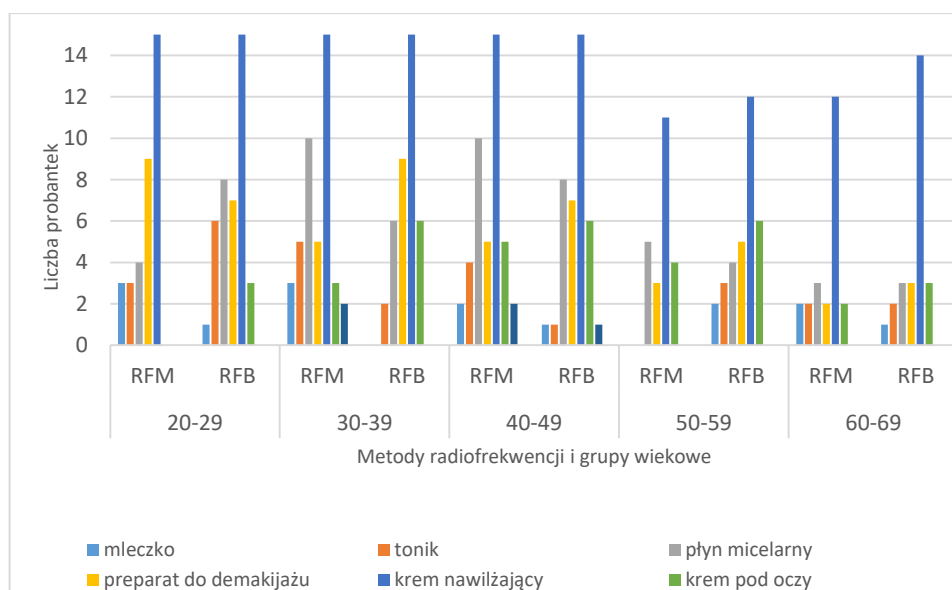
Rycina 44. Związek między pomiarami korneometrycznymi przed rozpoczęciem terapii a wiekiem probantek

8.3. Analiza ankiety autorskiej

Przeprowadzona ankieta autorska zawierała 25 pytań, na grupę badaną składało się 150 kobiet. Ankietę wypełniały probantki z grupy podanej terapią częstotliwościami radiowymi nazywaną w ankiecie radiofrekwencją, metodą monopolarną (RFM) 75 kobiet (50%) oraz metodą bipolarną (RFB) 75 kobiet (50%). W pierwszej części zadano pytania o dane demograficzne (płeć, wiek, miejsce zamieszkania, wykształcenie). Pytania dotyczące wcześniej prowadzonej pielęgnacji (rycina 45) oraz źródeł pozyskiwania informacji o zabiegach kosmetycznych (rycina 46). W grupach I, II, III był to najczęściej Internet (około 80%) reklamy (20%) , IV,V telewizja (75%) i znajomi (25%).

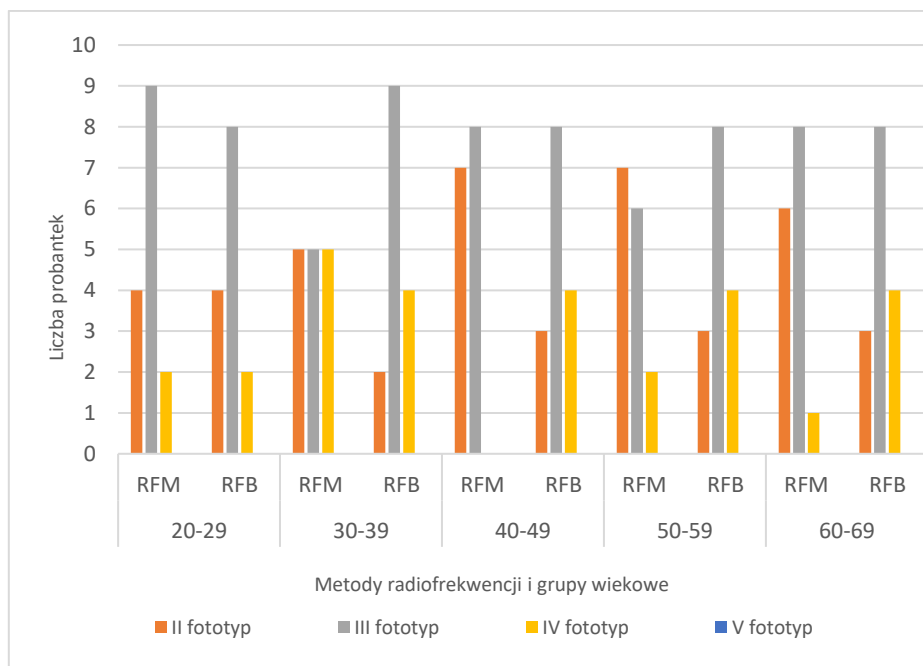


Rycina 45. Źródła pozyskiwania informacji o zabiegach kosmetycznych



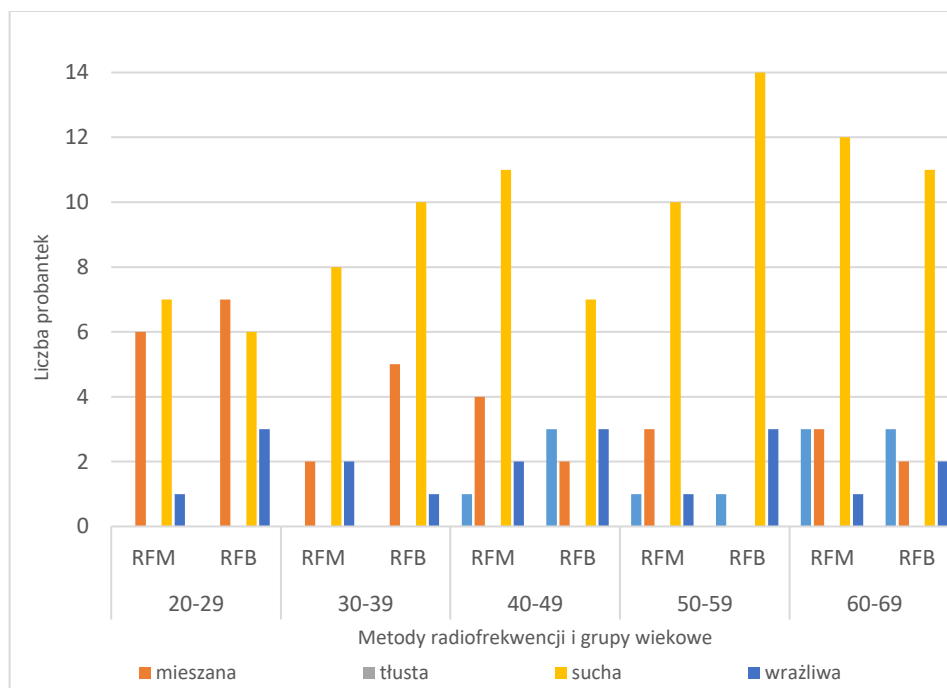
Rycina 46. Wcześniej prowadzona pielęgnacja domowa

Fototyp II określony został dla 45 probantek (30%), III fototyp dla 77 (51%), a IV fototyp dla 28 (19%) w odniesieniu do wszystkich grup wiekowych (rycina 47).



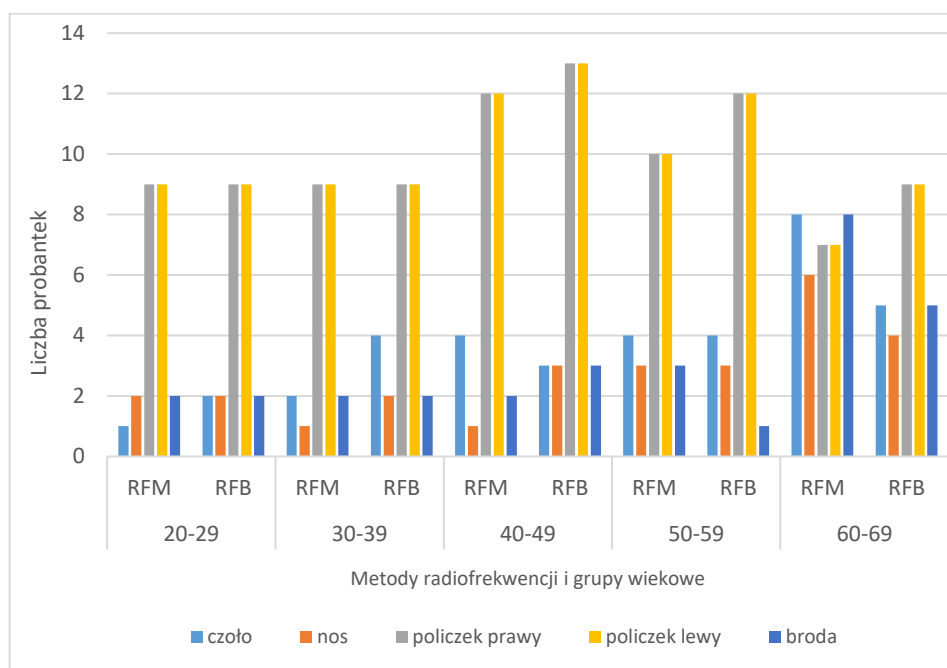
Rycina 47. Fototypy skóry w grupie badanej w skali Fitzpatrick'a

Poprzez szczegółowy wywiad kosmetyczny i badanie wizualne określono rodzaj cery probantki, większość stanowiła cera sucha (rycina 48).



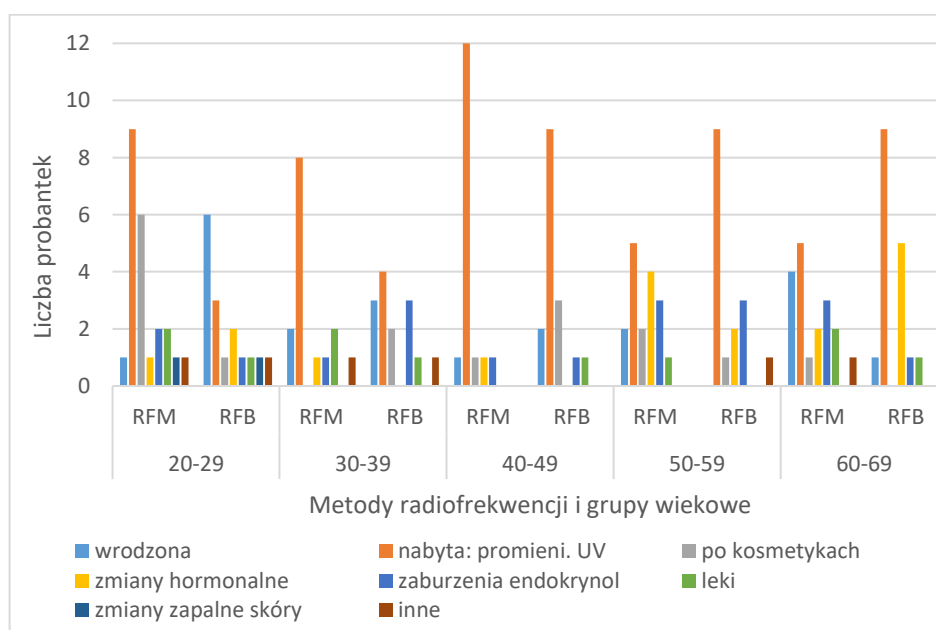
Rycina 48. Rodzaje cer występujące w grupie badanej

Probantki w ankiecie wskazywały najbardziej przesuszony obszary na twarzy i tak dla grupy I, II, III, IV były to policzki 99 (66%), a dla grupy V czoło 9 (30%) i policzki 21 (70%) (rycina 49).



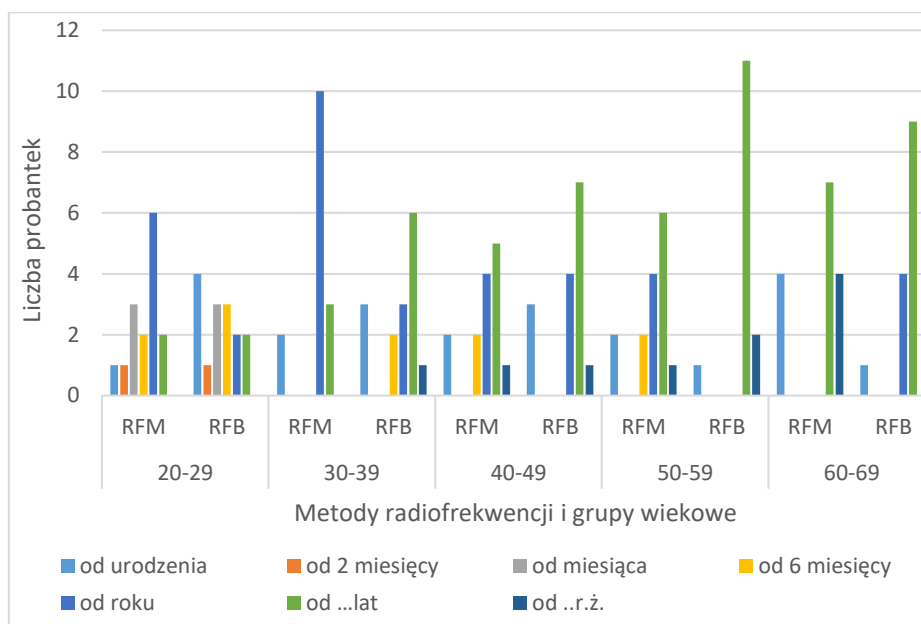
Rycina 49. Wskazane przesuszone obszary skóry twarzy

Za przyczynę przesuszenia skóry twarzy najczęściej wskazywano promieniowanie ultrafioletowe - 73 probantek (49%), 22 wskazało skłonność wrodzoną (15%), u 27 (18%) zaburzenia endokrynologiczne (głównie w grupie IV i V), u 17 (11%) po kosmetykach występowało przesuszenie skóry, a u 11 po lekach (7%) (rycina 50).



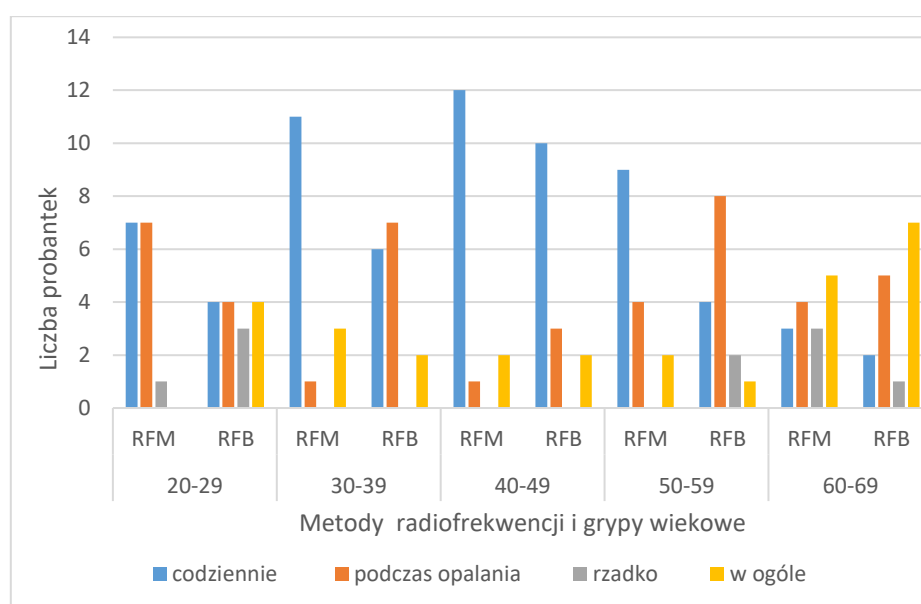
Rycina 50. Przyczyny przesuszenia skóry twarzy

Na średni czas utrzymywania się przesuszenia skóry twarzy grupa I, II wskazała: od urodzenia lub ok. roku, dla grupy III wynosił kilka lat, a dla IV kilkanaście lat (rycina 51).



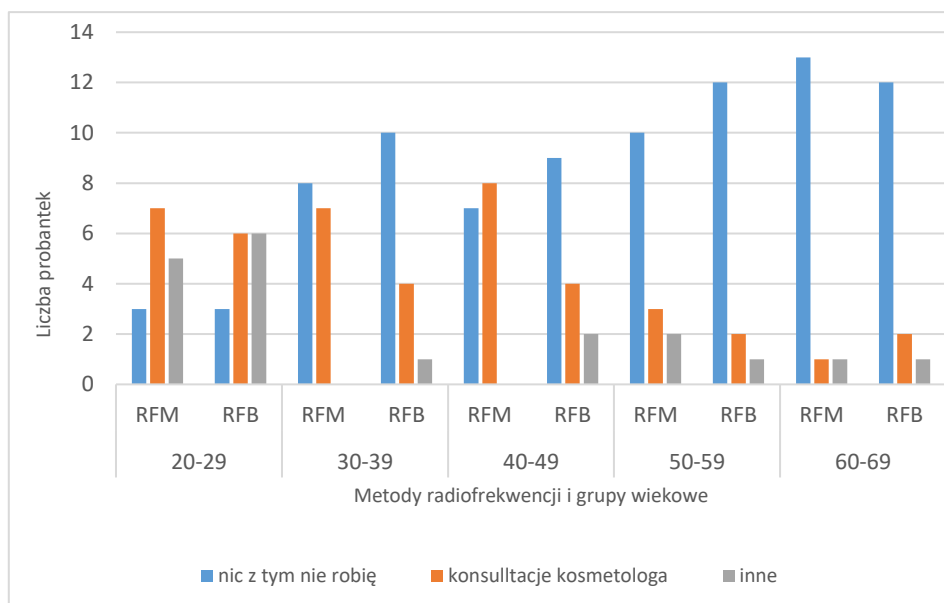
Rycina 51. Subiektywny czas utrzymywania się przesuszenia skóry twarzy

Świadomość stosowania fotoprotekcji można obserwować w młodszych grupach wiekowych wśród ankietowanych I, II I III (20-49 lat), które wskazały na codzienne stosowanie SPF15 w formie kremów, lub podczas opalania. Najmniejszą potrzebę ochrony skóry przed szkodliwym działaniem UV wykazywały probantki starsze (50-69 lat), które stosowały ochronę tylko podczas opalania lub w ogóle. Podobnie przedstawiały się odpowiedzi w pytaniu o postępowaniu z przesuszoną skórą twarzy (rycina 52).



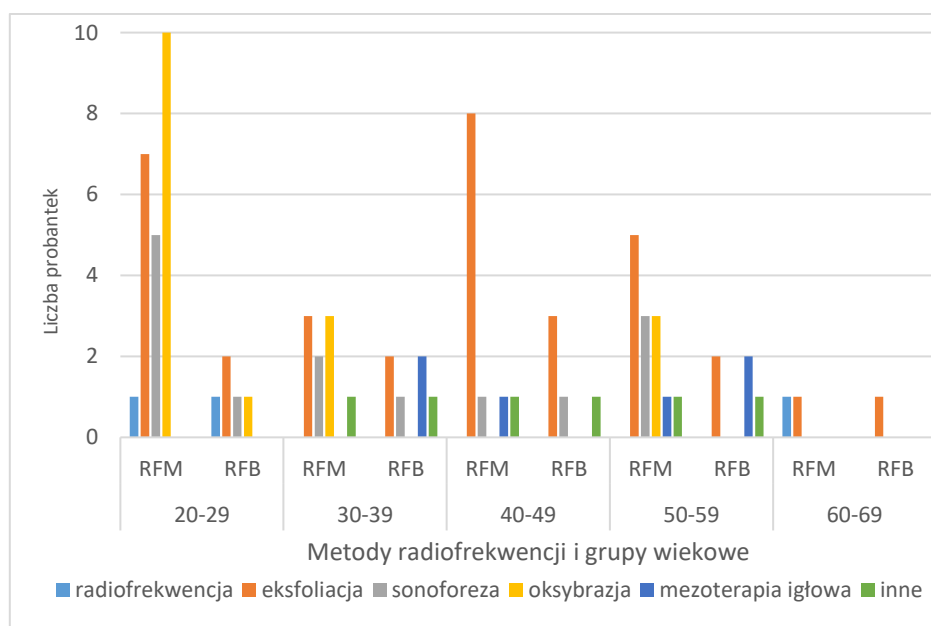
Rycina 52. Częstotliwość stosowania fotoprotekcji we wszystkich grupach wiekowych

Ankietowane z grup I-III (20-49 lat) wskazały na potrzebę konsultacji z kosmetologiem 38 (43%), nic z tym nie robi 42 (47%) probantek. W grupie IV oraz V (50-69 lat) tylko 7 (11%) korzysta z usług kosmetologa, a 47 (78%) nic z tym nie robi (rycina 53).



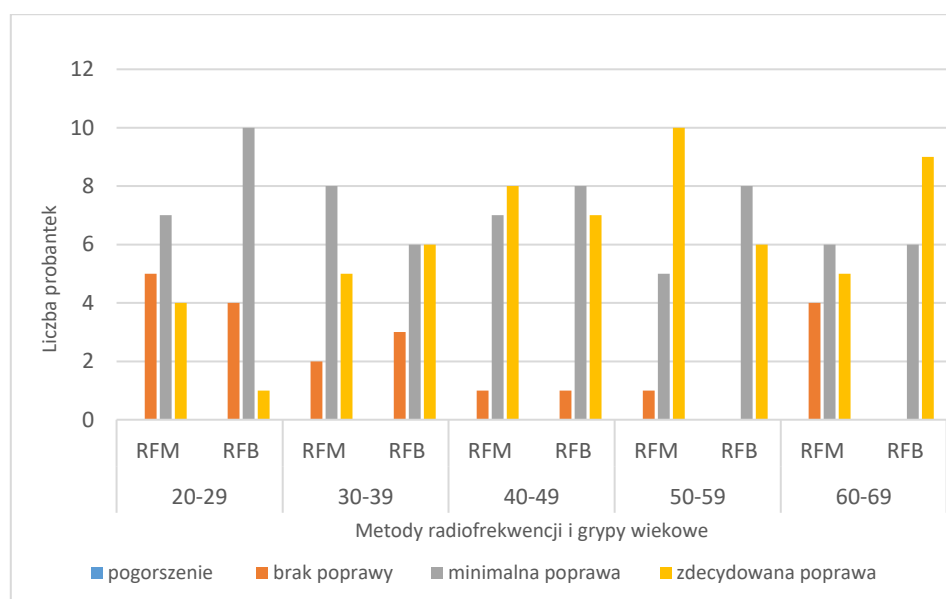
Rycina 53. Postępowanie w przypadku utrzymywania się przesuszenia skóry

Probantki zapytano o wcześniej stosowane zabiegi kosmetyczne, w grupie I, II, III (20-49 lat) była to najczęściej eksfoliacja słabymi kwasami 32 (36%) i oksybrzja 14 (16%), w grupie IV (50-59 lat) eksfoliacja (32%), grupie V (60-69 lat) zabiegi wykonywane były sporadycznie (rycina 54).



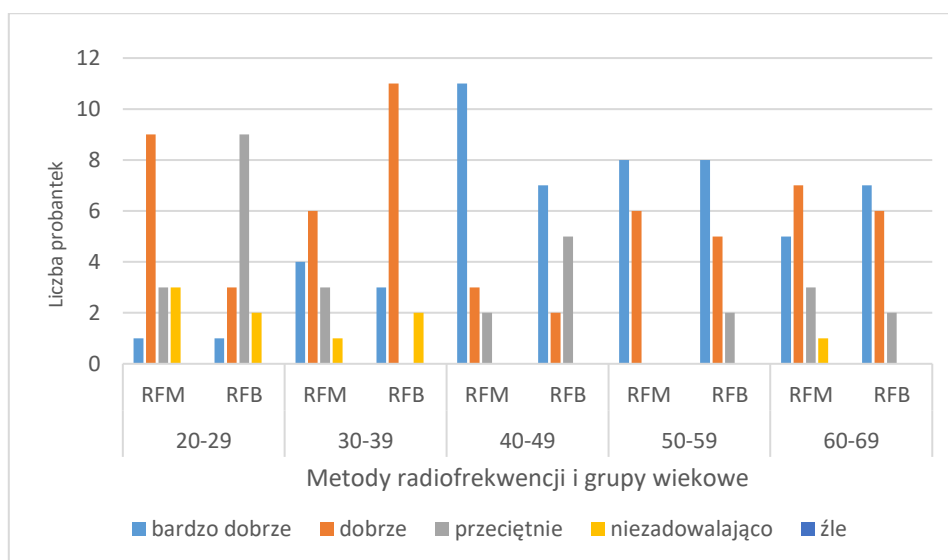
Rycina 54. Wcześniej stosowane zabiegi kosmetyczne

Probantki pytane były o odczuwalną poprawę nawilżenia skóry twarzy po terapii częstotliwościami radiowymi. W grupie wiekowej I (20-29 lat) obserwowano brak poprawy u 9 (30%), minimalną poprawę u 17 (57%), a zdecydowaną poprawę u 5 (17%). W grupie wiekowej II (30-39 lat) brak poprawy wskazało 5 (17%), minimalną poprawę zauważyło 14 (47%), a zdecydowaną poprawę zauważyło 11 (37%) osób. W grupie wiekowej III (40-49 lat) obserwowano minimalną poprawę u 15 (50%), a zdecydowaną poprawę również u 15 (50%). W IV (50-59 lat) grupie wiekowej zdecydowaną poprawę odnotowało 16 probantek (53%), minimalną 14 (47%). W grupie wiekowej V (60-69 lat) brak poprawy odnotowały 4 (13%) probantki, minimalną poprawę 12 (40%), a zdecydowaną 14 (47%). Nie obserwowano pogorszenia nawodnienia skóry (rycina 55).



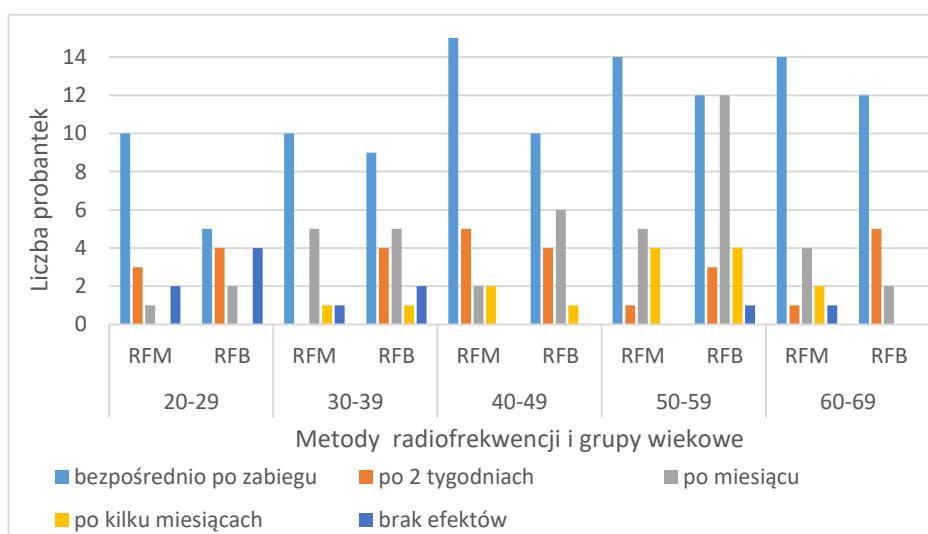
Rycina 55. Stopień subiektywnego odczucia nawilżenia skóry po terapii częstotliwościami radiowymi

Probantki pytane były o obserwowane zmiany uelastycznienia skóry twarzy po zastosowanym zabiegu radiofrekwencji. W grupie I obserwowano brak poprawy u 5 (17%), minimalną poprawę u 20 (67%), a zdecydowaną poprawę u 5 (17%). W grupie II brak poprawy wskazały 3 (10%) osoby, minimalną poprawę zauważyło 10 (33%), a zdecydowaną poprawę zauważyło 17 (57%). W grupie III obserwowano minimalną poprawę u 10 (33%), a zdecydowaną poprawę u 20 (67%). W IV grupie zdecydowaną poprawę odnotowało 19 (63%) probantek, minimalną poprawę 9 (30%). W grupie V brak poprawy obserwowała 1 probantka, minimalną poprawę 11 (37%), a zdecydowaną 18 (60%). Nie obserwowano pogorszenia się elastyczności skóry twarzy (rycina 56).



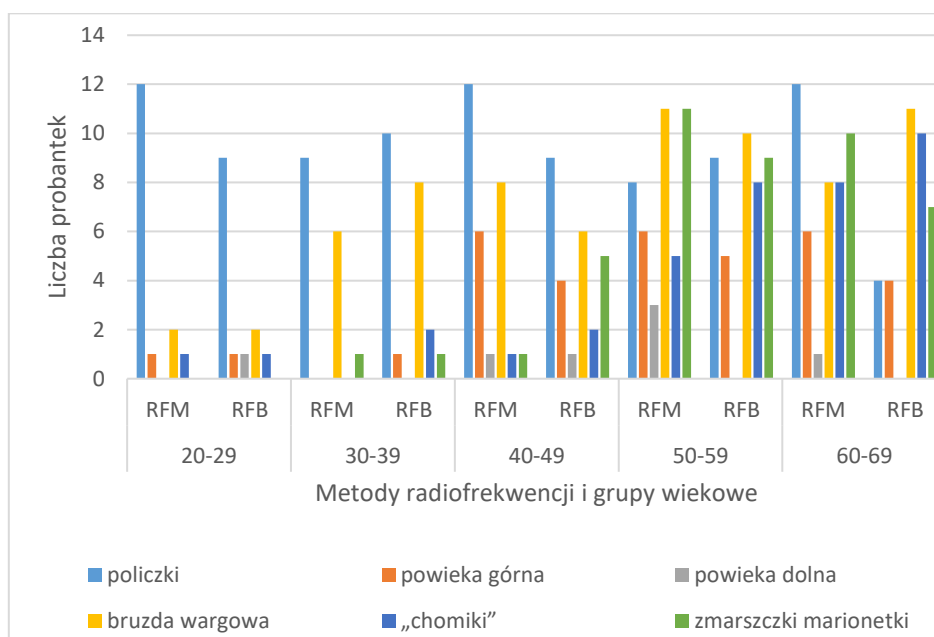
Rycina 56. Stopień subiektywnej poprawy uelastycznienia

W grupie I efekt był zadowalający bezpośrednio po zabiegu u 15 (50%) probantek, utrzymanie efektu napięcia skóry twarzy po 2 tygodniach obserwowało 7 (23%), po miesiącu u 10 (33%), brak efektów dla tej grupy zauważyło 6 (20%). W grupie II efekt bezpośrednio po zabiegu zauważyło 19 (63%) probantek, utrzymanie efektu po 2 tygodniach u 4 (13%), po miesiącu u 10 (33%), po kilku miesiącach 3 (10%), brak efektów obserwowały 3 (10%) probantki. W grupie III efekt bezpośrednio po zabiegu zauważyło 25 (83%) probantek, utrzymanie efektu po 2 tygodniach obserwowało 9 (30%), po miesiącu 8 (27%), po kilku miesiącach 3 (10%). W grupie IV efekt bezpośrednio po zabiegu zauważyło 16 (53%) probantek, utrzymanie efektu po 2 tygodniach u 4 (13%), po miesiącu u 17 (57%), po kilku miesiącach 6 (20%), brak efektów zauważyła 1 probantka. W grupie V efekt bezpośrednio po zabiegu zauważyło 26 (87%), utrzymanie efektu po 2 tygodniach 6 (20%), po miesiącu 6 (20%), po kilku miesiącach 2 (7%), 1 zauważyła brak efektów (rycina 57).



Rycina 57. Ocena skuteczności terapii częstotliwościami radiowymi obserwowana w czasie

W pytaniu dotyczącym występowania zmian charakterystycznych dla objawów starzenia się skóry twarzy (rycina 58) w grupie I większość respondentek 21 (70%) zauważyła natychmiastowe podciągnięcie opadających policzków, tylko 2 (7%) zaobserwowały podniesienie opadających powiek. Bruzda nosowo-wargowa uległa spłyceniu u 4 (14%) ankietowanych, „chomiki” i zmarszczki „marionetki” nie występowały w tej grupie wiekowej. W grupie II 19 (63%) zauważyła natychmiastowe podciągnięcie opadających policzków. Bruzda nosowo-wargowa uległa spłyceniu u 12 (40%) „chomiki” i zmarszczki „marionetki” u 2 (7%). W grupie III 21 (70%) respondentek zauważyła natychmiastowe podciągnięcie opadających policzków, tylko 10 (33%) zaobserwowała podniesienie opadających powiek. Bruzda nosowo-wargowa uległa spłyceniu u 14 (47%), „chomiki” u 3 (10%) a zmarszczki „marionetki” u 6 (20%). W grupie IV 17 (57%) respondentek zauważyła natychmiastowe podciągnięcie opadających policzków, 11 (37%) zaobserwowało podniesienie opadających powiek. Bruzda nosowo-wargowa uległa spłyceniu u 21 (70%) ankietowanych, „chomiki” u 13 (43%) a zmarszczki „marionetki” u 19 (63%) (rycina 58).



Rycina 58. Występowanie objawów starzenia się skóry twarzy

W grupie V 16 (53%) respondentek zauważyła natychmiastowe podciągnięcie opadających policzków, 1 (63%) zaobserwowało podniesienie opadających powiek. Bruzda nosowo-wargowa uległa spłyceniu u 19 (63%), „chomiki” u 18 (60%) a zmarszczki „marionetki” u 17 (58%).

8.4. Ocena wizualna skóry twarzy po terapii częstotliwościami radiowymi

Podczas przeprowadzania eksperymentu własnego wykonywana była fotograficzna dokumentacja przed zabiegiem i po zabiegu, mająca na celu wskazanie wizualnych efektów po terapii częstotliwościami radiowymi metodą monopolarną (rycina 59) oraz metodą bipolarną (rycina 60, rycina 61).



A: przed zabiegiem



B: po zabiegu

Rycina 59. Efekty terapii częstotliwościami radiowymi metodą monopolarną w obszarze całej twarzy, po jednym zabiegu (A: przed zabiegiem, B: po zabiegu) [opracowanie własne]



A: przed zabiegiem



B: po zabiegu



A: przed zabiegiem



B: po zabiegu

Rycina 60. Efekty terapii częstotliwościami radiowymi metodą bipolarną w obszarze twarzy, szyi, po jednym zabiegu (A: przed zabiegiem, B: po zabiegu) [opracowanie własne]



A: przed zabiegiem



B: po zabiegu

Rycina 61. Efekty terapii częstotliwościami radiowymi metodą bipolarną w okolicach oczu, po jednym zabiegu (A: przed zabiegiem, B: po zabiegu) [opracowanie własne]

Dla przedstawienia skuteczności metod radiofrekwencji dodatkowo wykonano dokumentację fotograficzną, bezpośrednio po zabiegu oraz miesiąc po zabiegu radiofrekwencji frakcyjnej mikroigłowej, z widocznym rozjaśnieniem i remodelingiem skóry twarzy (rycina 62).



A: bezpośrednio po zabiegu



B: miesiąc po zabiegu

Rycina 62. Efekty terapii częstotliwościami radiowymi metodą mikroigłową z elektroporacją (A: bezpośrednio po zabiegu, B: miesiąc po zabiegu) [opracowanie własne]

9. Dyskusja

Zmiany związane z zainteresowaniem zabiegami kosmetologicznymi i medycyny estetycznej są wynikiem, dających się zaobserwować obecnie zjawisk. Pacjenci, niezależnie od kultury, pochodzenia etnicznego lub statusu socjoekonomicznego oczekują efektu natychmiastowego, przy pomocy małoinwazyjnych metod.

Porter i Quinn twierdzą, że osoby ładne otrzymują wyższe oceny w szkołach [129]. Podobną zależność wykazali w swoich badaniach Clifford i Walster [130], którzy zauważyli, że nauczyciele, mający wystawić opinię o uczniu, na podstawie jego ocen i osiągnięć pozaszkolnych, wystawiali zawsze wyższą ocenę uczniom, którzy byli ładniejsi, na dołączonej fotografii. Riniolo i wsp. w swoich badaniach zauważyli, że studenci oceniający poziom wiedzy profesorów w 5-stopniowej skali, przyznawali o 0,8 punktów więcej tym, którzy wyróżniali się ładnym wyglądem [131].

Badacze wykazali w swoich badaniach, że osoby atrakcyjniejsze są wyżej oceniane oraz dostają niższe wyroki sądowe, w stosunku do osób brzydszych. Rhodes w swoich badaniach udowadnia, że kobiety o atrakcyjniejszych twarzach mają więcej długotrwałych związków [132]. Atrakcyjni fizycznie kandydaci do pracy, z wykształceniem i kwalifikacjami takimi samymi jak osoby mniej atrakcyjne, mają od nich większą szansę na zatrudnienie [133,134,135]. Atrakcyjność fizyczna ma także wpływ na wysokość zarobków. Zjawisko to jest wyraźniej obserwowane w odniesieniu do mężczyzn niż kobiet. Pracownicy odznaczający się atrakcyjniejszą urodą zarabiają o ok.15% więcej, w stosunku do osób brzydszych [136]. Badania przeprowadzone przez psychologów wykazują, że osoby, które same uważają siebie za atrakcyjne są bardziej pewne siebie [137].

Badania, w których bezpośrednio porównywano małoinwazyjne technologie poprawiające napięcie skóry są nieliczne. Zastosowana w eksperymencie własnym terapia częstotliwościami radiowymi polega na napięciu skóry, poprzez jej remodeling, w procesie neokolagenezy oraz neoelastogenezy po objętościowym głębokim ogrzewaniu. Nieablacyjne kurczenie tkanek zależy od obszaru, parametrów zabiegowych i powtórzeń serii. Dalszy rozwój technologii i udoskonalenie protokołów zabiegowych mogą pozwolić na intensywniejszą modulację podstawowych struktur skórnych. Wiek, pochodzenie etniczne, kolor, grubość skóry pacjentów może wpłynąć na wyniki [138, 139].

Obecnie wzrasta popularność terapii częstotliwościami radiowymi, co wiąże się z nieinwazyjnością procedury, brakiem konieczności wykluczenia pacjenta z życia codziennego i możliwości wykonania go o każdej porze roku [140,141].

Po przeglądzie piśmiennictwa medycznego napotkano na znikome dane dotyczące czasu utrzymywania się efektów po terapii częstotliwościami radiowymi, z zastosowaniem metody monopolarnej oraz metody bipolarnej. Przeważnie badania dotyczyły inwazyjnej metody jaką jest frakcyjna radiofrekwencja mikroigłowa [93]. Lepsze efekty przynosi terapia synergiczna z iniekcjami wit.C, A, kwasem hialuronowym, hydroksyapatytem wapnia oraz osoczem bogatopłytkowym, ultradźwiękami, falą uderzeniową, krioterapią, zachowując odstępy czasowe [144].

Istnieją badania w których dowodzi się pozytywnego wpływu terapii częstotliwościami radiowymi na skórę człowieka [142-148]. Gold i wsp. zgodnie podają, że pacjenci poddający się zabiegom, z wykorzystaniem częstotliwości radiowych, są zadowoleni z efektów terapii [148]. Shapiro i wsp. podają, że wszyscy pacjenci byli zadowoleni z redukcji zmarszczek, co wiązało się m.in. z ilością przeprowadzonych procedur [121]. Im większa ilość powtórzeń zabiegów, tym lepsze rezultaty zabiegów. Macierzyńska i Pierzchała, w swoim badaniach dotyczących wpływu fal elektromagnetycznych o wysokiej częstotliwości na poprawę elastyczności skóry, badały grupę 30 ochotników. Wyniki ich badań wykazały wzrost elastyczności skóry u wszystkich badanych osób [63].

Badania z zastosowaniem metod monitorowania zmian w strukturze skóry, w tym włókien kolagenowych, prowadzone były przez Tsung-Hua Tsai i wsp., którzy dokonywali oceny, poprzez badanie histopatologiczne naskórka, skóry i składników naczyniowych skóry, po miesiącu oraz po 3 miesiącach od rozpoczęcia terapii [150]. Sukal i wsp. dokonali oceny efektów terapii radiofrekwencji monopolarnej w obszarze skóry twarzy i ciała, dotkniętej fotostarzeniem. Badanie powtórzone zostało po 2, 4 i 6 miesiącach od badania bazowego [151]. Kwon i wsp. badali terapię częstotliwością radiową metodą monopolarną, z zastosowaniem obrazowania USG [152]. Moetaz El-Domyati i wsp. oceniali efekty nieinwazyjnej radiofrekwencji monopolarnej, poprzez wykonanie fotografii standardowych i biopsji skóry twarzy po 3 i po 6 miesiącach [138]. Zelickson i wsp. opierali się na badaniu histologicznym skóry po terapii RF [154]. Wykaz badań potwierdzających skuteczność terapii częstotliwościami radiowymi i czas utrzymywania się remodelingu skóry jest niewystarczający. Porównując poszczególne badania, dotyczące określonych technologii, metody gromadzenia danych różnią się między badaniami. Wahają się one w zakresie od nieustandaryzowanych fotografii po wygenerowane komputerowo pomiary, na podstawie stałych punktów charakterystycznych. W niektórych mierzono redukcję zmarszczek, oceniano poprawę bliznowacenia potrądzikowego i ogólne odmłodzenie skóry.

Skale przeznaczone do specyficznej oceny zwiótczenia skóry są subiektywne, co utrudnia porównywanie wyników. Należy uwzględniać różnice między pomiarami, które mimo starań, nie są nigdy prowadzone w pełni jednorodnych warunkach. We wcześniejszych badaniach skóry człowieka pojawiają się zmienne, takie jak wpływ zmian hormonalnych u kobiet, dieta, styl życia, stresu. Oznaczenia mogą być wykonywane w każdym obszarze skóry, w większości na skórze przedramion i tułowia. Pomiary parametrów czynnościowych skóry należy wykonywać w określonych warunkach, w ściśle określonej porze dnia, po aklimatyzacji badanych przez okres 20–30 minut. Schnetz i wsp. zalecają wykonywanie badań czynnościowych w obrębie skóry twarzy, która charakteryzuje się stosunkowo stabilnym poziomem ich wartości [155]. Osoby objęte badaniem są informowane o konieczności niestosowania emolientów i detergentów, które zdaniem niektórych autorów, wpływają na zmiany parametrów czynnościowych skóry [156,157]. Na prawidłowe funkcjonowanie bariery naskórkowej, a tym samym na wyniki pomiarów czynnościowych skóry wpływa szereg czynników zarówno wewnątrz-, jak i zewnątrzpochodnych. Obejmują zaburzenia hormonalne, choroby skóry i choroby ogólnoustrojowe, a także sam proces starzenia się skóry związany z upływem czasu [158]. Cykl miesięczny u kobiet może wpływać na funkcje barierowe skóry, wydzielanie lipidów, grubość skóry, nawilżenie naskórka [159,160-162]. O zmniejszeniu funkcji barierowej skóry w warunkach stresu donoszą Garg i wsp. oraz Muizzuddin i wsp. [163,164]. Wpływu stresu psychologicznego na parametry czynnościowe skóry takie jak: zmiany nawilżenia warstwy rogowej, czy pH powierzchni skóry, nie wykazali natomiast Chuong i wsp. [165]. Wszystkie te czynniki odpowiadają za pojawianie się zmian morfologicznych i czynnościowych w skórze, które mogą zaburzać jej prawidłową funkcję barierową [166]. W ocenie funkcji barierowej skóry przydatność pomiarów parametrów czynnościowych skóry jest bezdyskusyjna [167]. Badania przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy potwierdziły wyniki uzyskane przez innych badaczy.

W grupie 1. RFM oraz 2. RFB uzyskano poprawę napięcia skóry twarzy, wyrażoną statystycznie istotnym zwiększeniem wartości nawodnienia naskórka i zmniejszenie współczynnika TEWL. Wyniki uzyskane w ramach powyższej rozprawy pokazują, że terapia z zastosowaniem częstotliwości radiowych nie tylko znacząco zwiększa napięcie i gęstość skóry twarzy, ale utrzymuje się również po jej zakończeniu, dla wybranych grup wiekowych. Pozwala to wnioskować, że wyniki uzyskane podczas trwania terapii, zarówno metodą mono- jak i bipolarną, dają poprawę, utrzymującą się do ostatniego badania kontrolnego, oraz miesiąc po zakończeniu terapii.

Warty zaznaczenia jest fakt, że efekt uzyskany w terapii częstotliwościami radiowymi utrzymał się do kolejnego badania, wykonanego po miesiącu. Przeprowadzony eksperyment własny udowodnił, że terapia polem elektromagnetycznym, o częstotliwości radiowej, poprawia stan nawodnienia skóry twarzy u kobiet w różnych grupach wiekowych. Badania te mogą przyczynić się do pełniejszego zrozumienia zmian zachodzących w skórze, po zastosowaniu procedur kosmetycznych. Biorąc pod uwagę wyniki badania tewametrycznego i korneometrycznego możemy przypuszczać, że badane parametry biofizyczne ulegają zmianom. Nieoczekiwanym rezultatem był pomiar korneometryczny, nie zawsze korelujący z wynikami tewametrii, widoczny w grupie wiekowej V (60-69 lat) zarówno w metodzie RFM jak i w metodzie RFB. Ciekawy wynik otrzymano przy badaniu grupy I (20-29 lat), gdzie nie obserwowano istotnych zmian w parametrach biofizycznych oraz subiektywnych efektów po zabiegu. Ostatnia z postawionych hipotez, mówiąca o istnieniu związku między terapią częstotliwościami radiowymi a czasem utrzymywania się efekty wolumetrycznego, nie znalazła potwierdzenia w wynikach badań, dla probantek w grupie V (60-69 lat) dla obydwu metod. Efekt remodelingu skóry twarzy okazał się niedostatecznie trwałe lub nietrwałe. Pomiaru funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka dokonano w oparciu o wyznaczenie TEWL, który jest wskaźnikiem świadczącym o zaburzeniach w zakresie S.C. Ocenia stan czynnościowy i homeostazę bariery naskórkowej, wykrywa nawet subkliniczne odchylenia [168].

Utrata wody przez naskórek przebiega głównie z udziałem dwóch mechanizmów. Jest to parowanie, na drodze biernej dyfuzji oraz wydzielanie przez gruczoły ekrynowe. W przypadku uszkodzenia SC, stopień utraty wody przez naskórek może sięgać nawet $70 \text{ g/m}^2/\text{h}$ [169]. Prawidłowa wartość TEWL, charakteryzująca dobrze funkcjonującą barierę naskórkową, nie przekracza $25 \text{ g/m}^2/\text{h}$ [170]. Wskazuje to na związek pomiędzy stopniem zawartości wody w naskórku a wiekiem probantek. Analizując, w eksperymencie własnym pomiary TEWL ujawniono statystycznie znamienne różnice w jego średnich wartościach pomiędzy grupami wiekowymi. Pomiaru nawodnienia warstwy rogowej naskórka dokonano w oparciu o badanie korneometryczne, mające na celu określenie zawartości wody, za pomocą metody pojemnościowej, pozwalającej na pomiar pojemności elektrycznej naskórka. Ocena stopnia nawilżenia naskórka jest pomiarem pozwalającym określić stan czynnościowy bariery naskórkowej, niedostateczne uwodnienie powoduje upośledzenie funkcji barierowych i zwiększa prawdopodobieństwo podrażnienia skóry [171]. Obserwuje się odwrotną zależność pomiędzy TEWL a stopniem nawilżenia naskórka.

Wysokiej wartości TEWL towarzyszy zwykle obniżona zawartość wody w SC [172]. Podobną zależność obserwowano u probantek, u których zastosowano trwającą 4 miesiące terapię częstotliwościami zarówno metodą mono - jak i bipolarną. Obniżenie poziomu nawodnienia warstw naskórka obserwowano wraz z wiekiem. Prawidłowe funkcjonowanie skóry, jak i całego organizmu, zależy od prawidłowej zawartości wody. Zaburzenia procesu keratynizacji mogą skutkować nagromadzeniem częściowo odłączonych keratynocytów. Cykl komórkowy wydłuża się wraz z wiekiem, komórki powierzchniowej warstwy rogowej są starsze i ich funkcja może zostać uszkodzona. Niedostateczna zawartość wody w naskórku, zmniejszająca się wraz z wiekiem, przyczynia się do zmian w składzie NMF. Spowolnienie metabolizmu i zmiany hormonalne znacznie przyczynia się do ścięczenia naskórka i pogrubienia warstwy rogowej. Z wiekiem zmniejsza się istotnie ilość substancji lipidowych, odpowiedzialnych za ograniczenie parowania i prawidłowe nawodnienie poszczególnych warstw naskórka. Badania, dotyczące porównania metody monopolarnej i bipolarnej, przeprowadzone były przez Friedman'a i wsp. oraz Jongju Na i wsp. [173,174]. W metodzie monopolarnej, w grupie wiekowej I (20-29 lat), poziom nawilżenia utrzymywał się na stałym poziomie lub nieznacznie wzrastał. W niektórych przypadkach obserwowano nieznaczny wzrost współczynnika TEWL po trzeciej aplikacji (t2). Z tego względu ta metoda nie jest zalecana w młodym wieku, ze względu na duże wnikanie i możliwość zbyt intensywnego działania diatermii. W grupie wiekowej II (30-39 lat), dla metody monopolarnej obserwowano duży spadek nawodnienia po aplikacji u najstarszych probantek w grupie RF, co wiązać się mogło z dużym wzrostem TEWL po drugiej aplikacji (t1), z naturalnym spadkiem zawartości wody w skórze u kobiet w wieku ok. 40 lat. W grupie wiekowej III (40-49 lat), dla tej samej metody, obserwowano duży wzrost nawilżenia po trzeciej aplikacji (t2), ale podobnie jak w grupie poprzedniej, wraz z wiekiem, wzrastał poziom TEWL, a nawodnienie gwałtownie obniżyło się u probantek powyżej 45 r.ż. Stwierdzano również obniżenie współczynnika TEWL u kobiet najstarszych w tej grupie wiekowej, przyczyną mogą być zmiany hormonalne, spowodowane zmniejszeniem poziomów estrogenów. W grupie wiekowej IV (50-59 lat), dla metody monopolarnej, obserwowano duże zmiany w stopniu nawodnienia po aplikacjach fal radiowych w ustalonym rozkładzie czasowym. W grupie wiekowej V (60-69 lat,) dla metody monopolarnej, wraz z małą zawartością wody w strukturach skóry nie obserwowano spektakularnych zmian w nawodnieniu po terapii. W przypadku metody monopolarnej nie można dopuścić do nadmiernego przegrzania struktur skóry podczas trwania terapii. Konieczne jest monitorowanie temperatury emitowanej na głowicy.

Nie może ona przekraczać 39-41°C, ponieważ zbyt wysoka temperatura (65°C) prowadzi do denaturacji białka i powodowania efektu odwrotnego od oczekiwanego po terapii [151]. W przypadku metody monopolarnej może to powodować degradację znikomej warstwy tłuszczowej i włókien kolagenowych skóry twarzy [180-182]. Metoda ta nie powinna być bezkrytycznie stosowana w wieku starszym ze względu na niszczenie włókien kolagenowych typu IV.

W metodzie bipolarnej w grupie wiekowej I (20-29 lat) poziom nawodnienia naskórka utrzymywał się na stałym poziomie lub nieznacznie wzrastał, był on najwyższy z wszystkich badanych grup wiekowych. W tej metodzie obserwowano nieznaczny wzrost współczynnika przesnaskórkowej utraty wody po drugiej aplikacji (t2). Zmiany natychmiastowe, takie jak zmiana owalu twarzy, nie są możliwe do zaobserwowania na skórze jędrnej, poprawie uległ jedynie stopień nawodnienia. W grupie II (30-39 lat) dla metody bipolarnej, obserwowano równomierny wzrost nawodnienia, i spadek współczynnika TEWL. W grupie wiekowej III (40-49 lat) dla tej samej metody obserwowano duży wzrost nawilżenia po trzeciej aplikacji (t2). Największe wartości wskazujące na wzrost nawilżenia po zabiegu obserwowano u kobiet najstarszych w tej grupie. W odróżnieniu od metody monopolarnej obserwowano spadek wartości współczynnika TEWL wraz z wiekiem, ale co istotne, wzrastał on po drugiej aplikacji, co nie było zjawiskiem korzystnym. W grupie wiekowej IV (50-59 lat) obserwowano obniżenie nawodnienia naskórka, w ustalonym rozkładzie czasowym. W grupie wiekowej V (60-69 lat) dla metody bipolarnej wraz z małą zawartością wody w strukturach skóry obserwowano niewielką poprawę w nawodnieniu po terapii z zastosowaniem częstotliwości radiowych. Zbyt wysoka temperatura podczas zabiegu, podobnie jak w metodzie monopolarnej, mogła powodować degradację warstwy tłuszczowej i włókien kolagenowych skóry twarzy. Najlepsze efekty po terapii częstotliwościami radiowymi metodą monopolarną uzyskano w grupie wiekowej III (40-49 lat), gdzie nawilżenie utrzymywało się, średnio, na poziomie 60%.

Najlepsze efekty po terapii częstotliwościami radiowymi metodą bipolarną uzyskano w grupie wiekowej III (40-49 lat) oraz IV (50-59 lat). Ankieta autorska pozwoliła na przeprowadzenie analizy wśród 150 probantek.

Dokonano subiektywnej oceny rzeczywistego czasu utrzymywania się efektu po terapii częstotliwościami radiowymi, potwierdzając wyniki własnych analiz metod obiektywnych. Uzyskano informacje socjologiczne oraz dane dotyczące stosowanych wcześniej zabiegów kosmetycznych, fotoprotekcji, efektów po zakończeniu terapii.

Kobiety, w każdej grupie wiekowej, swą skórę określały jako suchą z przesuszonymi policzkami (66%), a jako czynnik predysponujący wskazały promieniowanie słoneczne. Po terapii największe (53%) odczuwalne nawilżenie skóry obserwowały probantki w grupie wiekowej III (40-49 lat), oraz w grupie wiekowej IV (50-59 lat) 47%. Poprawa nawilżenia mogła powodować subiektywne odczucie poprawy elastyczności skóry, co potwierdziły wyniki badań własnych, gdzie najlepsze efekty remodelingu skóry obserwowano w grupie wiekowej III (40-49 lat) oraz IV (50-59) i zostały określone jako zdecydowana poprawa u ponad 60% ankietowanych. Podobnie jak w badaniu obiektywnym, kobiety z najmłodszych grup wiekowych, w przypadku obu stosowanych metod, nie obserwowały poprawy (67%) stanu napięcia skóry. Napięcie natychmiastowe skóry, bezpośrednio po zabiegu, obserwowano u 63% ankietowanych w grupie wiekowej II (40-49 lat), 83% w grupie wiekowej III (50-59 lat), dla IV (50-59 lat) 53%. Najbardziej zauważalne zmiany obserwowano w grupie wiekowej V (60-69 lat).

Wskazano na intensywność zmian charakterystycznych dla skóry długowiecznej (zmarszczki mimiczne, „lwia” zmarszczka, zmarszczki „marionetki”, zmarszczki „palacza”, „kurze łapki”. Także bruzdy nosowe wargowe uległy spłyceniu, nastąpiło rozjaśnienie zasinień, podciągnięcie owalu twarzy.

Efekt wolumetryczny nie utrzymywał się jednak długo, co wiązać się mogło ze słabym nawodnieniem struktur naskórka, wykazanym w pomiarach parametrów biofizycznych podczas badań. Większość ankietowanych (86%) była zadowolona lub bardzo zadowolona z efektów, a czas utrzymywania się napięcia określano na około miesiąc po zabiegu, dla obydwu metod.

Podobnie wyniki rozkładały się w badaniach obiektywnych. Probantki (83%), zauważyły również znaczną poprawę bezpośrednio po zabiegu, 35% badanych zauważyło podciągnięcie owalu po 2 tygodniach, a większość stwierdziło poprawę po miesiącu po zabiegu. Po 4 miesiącach nastąpiła poprawa u ponad 47%. Podobne badania ankietowe przeprowadzono dla probantek poddanych zabiegom medycyny estetycznej, pytając o zadowolenie po tych zabiegach. Zasadne wydaje się kontynuowanie badań z wykorzystaniem metod biofizycznych, które wskazują na przydatność metod monitorowania w wykrywaniu zmian w strukturach skóry i naskórka.

Pomiary parametrów czynnościowych skóry wymagają kontrolowania wielu zmiennych, które mogą wpływać na wartości otrzymywanych wyników badań. Przegląd baz danych, książek, czasopism, wystąpień publicznych nie rozwiązuje tego zagadnienia.

Eksperyment własny miał na celu pozyskanie informacji czy terapia ta jest w stanie wpływać na podwyższenie się poziomu nawodnienia naskórka oraz czy jest w stanie utrzymać napięcie struktur twarzy dłuższy czas. Przeprowadzona analiza własnych wyników pomiarów impedancji skóry ludzkiej dla dużej grupy badanych, pozwala wnioskować o pewnych różnicach osobniczych. Udało się pokazać, że zmiany niektórych parametrów można powiązać z rzeczywistymi zmianami w skórze ludzkiej po zastosowaniu terapii częstotliwościami radiowymi. Głównym czynnikiem wpływającym na różnicowanie było nawilżenie skóry, a ściślej biorąc stan bariery naskórka.

Powyższe wyniki obrazują, pozytywny wpływ terapii częstotliwościami radiowymi na prawidłowe funkcjonowanie bariery naskórkowej, stan nawodnienia naskórka, remodeling struktur skóry właściwej, poprzez zmianę napięcia włókien kolagenowych. Wykazano istotne różnice pomiędzy pomiarami w różnych grupach wiekowych, po zastosowaniu różnych metod badawczych, przeprowadzonymi w odstępach czasowych. Istotnym elementem pracy była próba korelacji monitoringu efektu terapii częstotliwościami radiowymi, z czasem utrzymywania się stopnia nawodnienia i efektu wolumetrycznego skóry twarzy, czego dotyczy czas w piśmiennictwie nie wyjaśniano.

Zaprezentowane wyniki badań pozwalają wyciągnąć wnioski, potwierdzające użyteczność wybranych, nieinwazyjnych metod badawczych, w monitorowaniu efektów po terapii częstotliwościami radiowymi w badanym obszarze czasowym. Przytoczone wyniki potwierdzają użyteczność nieinwazyjnych metod badawczych, takich jak tewametria i korneometria. Uzyskane i przeanalizowane informacje mogą być jednak punktem wyjściowym do dalszych badań, o podobnej problematyce. Należałoby zwrócić uwagę na zastosowanie nieinwazyjnych metod biometrycznych, takich jak kutanometria, reviscometria, identometria związanych z pomiarem elastyczności skóry. Aby tworzyć wiarygodne modele, z większą pewnością odzwierciedlające stan rzeczywisty, należałoby skorzystać również np. z zapisów USG. Przeprowadzenie powyższych badań, dotyczących terapii remodelingu skóry twarzy wydaje się ważne, ze względu na zapotrzebowanie na tego typu zabiegi.

Potencjalne znaczenie praktyczne uzyskanych wyników może przyczynić się do określenia bezpiecznych, synergicznych procedur zabiegowych, które mogą być zastosowane przez firmy konstruuujące innowacyjną aparaturę, stosowaną w kosmetologii. Pozwalają one na monitorowanie stanu skóry i oceny skuteczności preparatów oraz urządzeń. Mogą przyczynić się do rozwoju teorii i praktyki danego zagadnienia.

Nieinwazyjny pomiar impedancji skóry ludzkiej może również posłużyć do wstępnego diagnozowania chorób skóry, z chorobami nowotworowymi włącznie, pełnić funkcję prostego badania przesiewowego, ukazującego właściwości, których nie widać gołym okiem. Przeprowadzone pomiary pozwalają jednak na pewne wnioski i wskazują możliwy dalszy kierunek badań, pokazując jak złożonym i interesującym problemem jest pomiar właściwości ludzkiej skóry.

10. Wnioski

Zgromadzone i przeanalizowane wyniki, pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Zastosowanie terapii częstotliwością radiową, metodą monopolarną oraz metodą bipolarną, spowodowało obniżenie poziomu przeznaskórkowej utraty wody oraz zwiększenie nawodnienia struktur naskórka.
2. Wykazano różnice pomiędzy wartościami w różnych grupach wiekowych, a najlepsze efekty terapii zaobserwowano dla metody bipolarnej w grupie wiekowej III (40-49 lat) oraz IV (50-59 lat), po drugiej emisji fali.
3. Na podstawie przeprowadzonej ankiety autorskiej określono rzeczywisty czas utrzymywania się efektu wolumetrycznego. Efekt subiektywny określono jako zadowalający - bezpośrednio po zabiegu, ale nie utrzymujący się zbyt długo. Dodatkowo zaobserwowano zmiany, które zaszły w obszarze skóry twarzy u kobiet podczas 4-miesięcznej terapii, takie jak rozjaśnienie, uelastycznienie, podniesienie opadających powiek, kącików ust, niwelowanie zmarszczek i bruzd nosowo-wargowych.
4. Nieinwazyjne biofizyczne metody oceny parametrów skóry twarzy, takie jak pomiaru funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka (tewametria) oraz pomiar stopnia nawodnienia naskórka (korneometria), stanowią przydatną metodę w ocenie przebiegu 4- miesięcznej terapii częstotliwościami radiowymi.

11. Streszczenie

Skóra twarzy człowieka stanowi bardzo dobry model badawczy w odniesieniu do całościowego zjawiska starzenia się organizmu. Narażona na ekspozycję słoneczną i działanie czynników zewnętrznych jest przystosowana do regeneracji. Ulega starzeniu szybciej niż pozostałe narządy naszego ciała. Poznanie tego procesu starzenia skóry pozwala zrozumieć, w jaki sposób należy mu przeciwdziałać. W jego przebiegu dochodzi do zmian morfologicznych oraz biochemicznych, immunologicznych i endokrynych. Polegają one na utracie macierzy zewnątrzkomórkowej a zwłaszcza kwasu hialuronowego, który wraz z włóknami kolagenowymi i sprężystymi odpowiada za jej viskoelastyczność. Zmiany biochemiczne starzejącej się skóry i związane z tym zaniki włókien kolagenu i elastyny są spowodowane zwiększoną ekspresją kolagenazy, żelatynazy, elastazy oraz metaloproteinaz macierzy. Wyróżnia się starzenie wewnątrzpochodne i zewnątrzpochodne. Istnieje kilka teorii starzenia wewnątrzpochodnego takich jak: teoria genetyczna, Hartmana, Hayflicka, glikacji czy hormonalna. W wyniku procesu starzenia się skóry dochodzi do szeregu niekorzystnych zmian, w wyniku upośledzenia funkcji układu neuroendokrynnego, osłabienie układu immunologicznego. Stopniowo nasilające się zmiany w strukturach podporowych dodatkowo upośledzają funkcje skóry. Z czasem pojawiają się zmarszczki mimiczne, skóra staje się sucha i mniej elastyczna, występuje atrofia naskórka i skóry właściwej, zmienia się owal twarzy. Zmiany strukturalne połączeń skórno - naskórkowych powodują ścieńczenie naskórka i spłaszczanie soplei naskórkowych, zmniejsza się liczba mastocytów oraz fibroblastów. Starzenie zewnątrzpochodne związane jest z niehigienicznym trybem życia, sposobem odżywiania, stresem, klimatyzacją, promieniowaniem UV. Klinicznie pojawiają się zmarszczki, przebarwienia, teleangiektazje oraz zmiany przed i nowotworowe, zmiany strukturalne DNA, i osłabienie funkcji bariery. Obecnie wprowadza się obowiązek udokumentowanej diagnostyki stanu skóry przed zabiegami medycyny estetycznej oraz procedur kosmetycznych. Dotychczas zdecydowana większość nieinwazyjnych zabiegów była tylko po ocenie wizualnej. Konieczność wnikliwej diagnostyki rzadko jest łączona z efektami metod i stopniem satysfakcji pacjenta. Czas wdrożeń zabiegów wyegzekwuje bezwzględność stosowania pomiarów parametrów skóry. Wraz z pojawianiem się technologii mających spełniać rosnące wymagania odnośnie małoinwazyjnych procedur zwiększania napięcia skóry, przybywa danych na poparcie skuteczności wielu urządzeń. Wprowadzenie przyrządów pomiarowych i rozwój biometrii skóry wynika z ograniczeń oceny zmysłowej. Subiektywnym obserwacjom brakuje odtwarzalności i niezawodności.

Nieinwazyjne, biometryczne metody oceny parametrów biofizycznych skóry twarzy, stanowią przydatną metodę w ocenie przebiegu terapii częstotliwościami radiowymi, która powoduje podgrzanie skóry. Podwyższenie temperatury prowadzi do obkurczenia włókien kolagenowych, które wynika z ich częściowej denaturacji. Dzięki częściowemu przerwaniu międzycząsteczkowych wiązań krzyżowych kolagenu włókna ulegają ściągnięciu i zagęszczeniu. Zabieg prowadzi do poprawy gęstości skóry, co jest widoczne po zabiegu, a dodatkowo stymuluje fibroblasty do syntezy włókien kolagenowych i elastynowych. Efekty stosowania RF można podzielić na natychmiastowe i odległe. Efekty przebudowy czyli remodelingu skóry widoczne są stopniowo od kilku tygodni do kilku miesięcy po zabiegu. Celem przeprowadzonych badań było określenie stanu skóry twarzy po terapii polem elektromagnetycznym o częstotliwości radiowej oraz ocena trwałości uzyskanych zmian po 4 miesięcznej terapii. Oceny właściwości biofizycznych skóry dokonano za pomocą pomiaru funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka (tewametria) oraz stopnia nawodnienia naskórka (kornemetria). W eksperymencie własnym dokonano porównania skuteczności metody radiofrekwencji monopolarnej z metodą bipolarną w obszarze skóry twarzy u kobiet, w wybranych grupach wiekowych. W prowadzonym badaniu terapii poddano 150 kobiet deklarujących dobry ogólny stan zdrowia, ze skórą klinicznie zdrową. Badana populacja podzielona została na dwie grupy: 1. RFM (metoda monopolarna): grupa 75 kobiet poddana terapii częstotliwością radiową. Wyróżniono 5 grup wiekowych. Probandki poddane były pomiarowi pierwszemu (t_0) kolejne badanie wykonano po miesiącu (t_1), oraz po czterech miesiącach (t_2) od pierwszego badania. Grupa 2. RFB (metoda bipolarna) stanowiła adekwatny rozkład wiekowy i schemat procedury badań jak w 1. RFM. Przeprowadzona instrumentalna ocena parametrów biofizycznych skóry wskazuje na dużą efektywność terapii częstotliwościami radiowymi, jak również celowość wyboru badanych parametrów skóry. Analizując pomiary TEWL w populacji poddanej terapii, ujawniono statystycznie znamienne różnice w jego średnich wartościach, pomiędzy grupami. Stwierdzono związek pomiędzy stopniem nawilżenia naskórka w zależności od wieku. Czas utrzymywania się efektu wyznaczono w sposób subiektywny, za pomocą ankiety autorskiej i określony został jako zadowalający, ale niewystarczająco trwałe. Optymalne efekty po terapii obserwowano dla metody radiofrekwencji bipolarnej w grupach wiekowych III (40-49 lat) i IV (50-59 lat). Otrzymane wyniki powinny przyczynić się do rozwoju kosmologii, jako interdyscyplinarnej gałęzi nauki oraz pomóc w lepszym poznaniu wymagań stawianych innowacyjnej aparaturze zabiegowej.

12. Summary

Human face skin is a very good research model in relation to the overall phenomenon of aging of the organism. Exposure to solar exposure and external factors is adapted to regeneration. It is aging faster than other organs of our body. Understanding the aging process of the skin allows you to understand how to counteract it. In its course, morphological and biochemical, immunological and endocrine changes occur. They consist in losing the extracellular matrix and especially hyaluronic acid, which together with collagen and elastic fibers is responsible for its viscoelasticity. Biochemical changes of aging skin and associated collagen and elastin collapse are caused by increased expression of matrix metalloproteinases, collagenase, gelatinase and elastase. There is a distinction between intrinsic and extrinsic aging. There are several theories of intrinsic aging such as: genetic theory, Hartman, Hayflick, glycation or hormonal. As a result of the skin aging process, a number of adverse changes occur as a result of impaired function of the neuroendocrine system, weakening of the immune system. Gradually increasing changes in supporting structures additionally impair skin function. Over time, mimic wrinkles appear, the skin becomes dry and less elastic, there is atrophy of the epidermis and dermis, the facial oval changes, furrows and lipodystrophy appear. Structural changes in skin - epidermal junctions cause thinning of the epidermis and flattening of epidermal icicles, the number of mastocytes and fibroblasts decreases. Exogenous aging is associated with an unhygienic lifestyle, diet, stress, air conditioning, ultraviolet radiation. Clinical signs include wrinkles, discolorations, erythematous changes and telangiectasias as well as pre- and neoplastic changes, structural changes in DNA, lipid peroxidation and weakening of the barrier function.

Currently, the obligation to document the diagnosis of skin condition before aesthetic medicine procedures or cosmetology procedures is introduced. So far, the vast majority of non-invasive treatments carried out only after visual assessment. The necessity of thorough diagnostics is rarely combined with the effects of methods and the degree of patient satisfaction, then the time of implementation of the procedures will enforce the ruthlessness of its use. With the emergence of technologies to meet the growing requirements for minimally-invasive procedures to increase skin tension, there is more data to support the effectiveness of many devices. The introduction of measuring instruments and the development of skin biometry results from the limits of sensory assessment. Subjective observations lack reproducibility and reliability.

Non-invasive biometric methods for the assessment of biophysical parameters of the face skin, are a useful method in assessing the course of radio frequency therapy, which causes the heating of the dermis under the influence of the application of electromagnetic current. Increasing the temperature within the dermis causes the collagen fibers to shrink, which results from their partial denaturation. By partially breaking intermolecular collagen cross-bonds, the fibers are drawn and compacted. The treatment improves the density of the skin, which is visible after the treatment, and additionally stimulates fibroblasts for the synthesis of collagen and elastin fibers. The effects of RF application can be divided into immediate and distant. The effects of remodeling or remodeling of the skin are gradually visible from a few weeks to several months after the procedure.

The aim of the conducted research was to determine the condition of the facial skin after the treatment with the radio frequency electromagnetic field and to assess the durability of the obtained changes after 4 months of therapy. The skin biophysical properties were assessed by measuring the barrier function of the stratum corneum (theoretical) and the degree of hydration (corneometry). The self-experiment compares the effectiveness of the monopolar radiofrequency method with the bipolar method in the area of the facial skin of women in selected age groups. In the current study, 150 women declared good general health, with clinically healthy skin. The studied population was divided into two groups: 1. RFM (monopolar method): a group of 75 women subjected to radio frequency monopolar therapy. There are 5 age groups. The probes were subjected to measurement (t0) subsequent after a month (t1), and after four months (t2) from the first examination. Group 2. RFB (bipolar method) was an adequate age distribution and test procedure scheme as in group 1. RFM.

The instrumental biophysical evaluation of the skin indicates a high efficiency of radio frequency therapy as well as the purposefulness of choosing the skin parameters to be tested. Analyzing TEWL measurements in the treated population revealed statistically significant differences in its mean values between groups. A relationship was found between the degree of hydration of the epidermis depending on age. The duration of the effect was determined in a subjective way by means of an author's questionnaire and was described as satisfactory but not durable enough. Optimal effects after treatment were observed for the RFB method for age groups III (40-49 years) and IV (50-59 years) for bipolar frequencies. The results obtained should contribute to the development of cosmetology as an interdisciplinary branch of science and help to better understand the requirements of innovative surgical equipment.

13. Piśmiennictwo

- [1]. Wasiluk M.: *Medycyna estetyczna bez tajemnic*, Wydawnictwo PZWL, Warszawa 2016.
- [2]. Placek W.: *Dermatologia estetyczna*, Termedia Wydawnictwo Medyczne, Poznań 2016.
- [3]. Zegarska B., Woźniak H.: *Przyczyny wewnątrzpochodnego starzenia się skóry*. Geraniol Pol.2006;14(4):153-159.
- [4]. Augustyniak A., Tazbir M.: *Zastosowanie przeciwstarzeniowe fal radiowych w kosmetologii*, Acta Clinic.29-35.
- [5]. Baumann L.: *Dermatologia estetyczna*, Wydawnictwo PZWL Warszawa 2013.
- [6]. Noszczyk M.: *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa 2010.
- [7]. Radlanski R.J., Wesker K.H.: *Twarz. Atlas Anatomii klinicznej*. wyd. I pod red. Kaczmarzyka T.Wydawnictwo Quintessence Publishing Polska, Warszawa, 2015r.
- [8]. Baroni A., Buommino E., Gregorio V., Ruocco E., Ruocco V.: *Structure and function of the epidermis related to barrier properties*. Clin Derma.2012; 30(3):257-62.
- [9]. Kowalewski C.: *Bariera naskórkowa a problem penetracji leków*. Derm Estet 2003; 5(6): 313-317.
- [10]. Behne M., Uchida Y., Seki T., de Montellano P.P., Elias P.M., Holleran W.M.: *Omega hydroxyceramides are required for corneocyte envelop formation and normal epidermal permeability barrier function*. J Invest Dermatol 2000; 114: 185-192.
- [11]. Swartzendruber D., Hertz P., Madison K.C., Downing D.T.: *Evidence that the corneocytes has a chemically bound lipid envelope*. J Invest Derm.1987; 88:709-713.
- [12]. Oren A, Ganz T, Liu L, Meerloo T.: *In human epidermis, beta-defensin 2 is packaged in lamellar bodies*. Exp Mol Pathol 2003; 74: 180-182.
- [13]. Proksch E., Brander J.M., Jansen J.M.: *The skin: an indispensable barrier*. Exp Dermatol 2008; 17: 1063-1072.
- [14]. Jensen J.M., Proksch E.: *The skin's barrier*. G Ital Dermat. 2009; 144(6): 689-700.
- [15]. Madison K.: *Barrier function of the skin: „La Raison d’Être” of the epidermis*. J Invest Dermatol 2003; 2(121): 231-241.
- [16]. Geilen C.C.: *Ceramide signalling: regulatory role in cell proliferation, differentiation and apoptosis in human epidermis*. Arch Dermatol Res 1997; 289: 559-566.
- [17]. Czarnecka-Operacz M.: *Sucha skóra jako aktualny problem kliniczny*. Postępy Dermatologii i Alergologii XXIII; 2006/249 XXIII, 2: 49–56.
- [18]. Martini C.M.: *Kosmetologia i farmakologia skóry*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007.

- [19]. Lynn A.K., Yannas I., Bonfield W.: *Antigenicity and immunogenicity of collagen*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2004;71(2):343–54.
- [20]. Gordon M.K., Hahn R.A.: *Collagens*. Cell Tissue Res 2010;339(1):247–57.
- [21]. Persikov A.V., Ramshaw J.A., Kirkpatrick A., Brodsky B.: *Electrostatic interactions involving lysine make major contributions to collagen triple-helix stability*. Biochemistry 2005;44(5):1414-22.
- [22]. Fallas J.A., Gauba V., Hartgerink J.D.: *Solution structure of an ABC collagen heterotrimer reveals a single-register helix stabilized by electrostatic interactions*. J Biol Chem 2009;284(39): 26851-9.
- [23]. Ricard-Blum S.: *The collagen family* Cold Spring Harb Perspect Biol 2011 1;3(1):a004978.
- [24]. Chung J.H., Seo J.Y. , Choi H.R. , Lee M.K. , Youn C.S., Rhie G., Cho K.H., Kim K.H., Park K.C., Eun H.C.: *Modulation of skin collagen metabolism in aged and photoaged human skin in vivo*. J Invest Dermatol 2001;117(5):1218–24.
- [25]. Tayebjee M.H., Mac Fadyen R.J.: *Lip GYH: Extracellular matrix biology: a new frontier invlinking the pathology and therapy of hypertension?* J Hypertens 2003;21(12):2211–8.
- [26]. Shoulters M.D., Raines R.T.: *Collagen structure and stability*. Annu Rev Biochem 2009;78:929-58.
- [27]. Uitto J.: *Connective tissue biochemistry of the aging dermis*. Clin Geriatr Med 1989; 5(1):127–47.
- [28]. Varani J., Dame M.K., Rittie L., Fligel S.E., Kang S., Fisher G.J., Voorhees J.J.: *Decreased collagen production in chronologically aged skin: roles of age-dependent alteration in fibroblast function and defective mechanical stimulation*. Amer J Pathol 2006; 168(6):1861–8.
- [29]. Hara M., Kikuchi K., Watanabe M. i wsp.: *Senile xerosis: functional, morphological, and biochemical studies*, J Geriatr Dermatol 1993; 1: 111–120.
- [30]. Suetake T., Sasai S., Zhen Y.X. i wsp.: *Functional analyses of the stratum corneum in scars. Sequential studies after injury and comparison among keloids, hypertrophic scars, and atrophic scars*, Arch Dermatol 1996; 132: 1453–1458.
- [31]. Ya-Xian Z., Suetake T. i Tagami H.: *Number of cell layers of the stratum corneum in normal skin-relationship to the anatomical location on the body, age, sex and physical parameters*., Arch Dermatol Res 1999; 291: 555–559.

- [32]. Tagami H., Ohi M., Iwatsuki K. i wsp.: *Evaluation of the skin surface hydration in vivo by electrical measurement*, J Invest Dermatol 1980; 75: 500–507.
- [33]. Marzec Ł., Zdrojewski Z., Bryl E., Rutkowski B.: *Białko szoku termicznego 72 (Hsp72) w chorobach nerek*. Nefrologia i Dializoterapia Polska, 2007 .
- [34]. Czubak A., Żbikowska H.: *Struktura, funkcja i znaczenie biomedyczne kolagenów*.
- [35]. Szwedło J.: *Analiza powikłań po zabiegach z użyciem fal elektromagnetycznych o wysokiej częstotliwości (RF) na podstawie literatury i doświadczeń własnych*.
- [36]. Kligman, A.M.: *The invisible dermatoses*, Arch Dermatol 1991; 127: 1375-1382.
- [37]. Rembelska K.: *Aparaturowa diagnoza skóry podstawą medycyny estetycznej i kosmetologii*, Cabines Polska 76, 2016.
- [38]. Tarapata G., Weremczuk J., Jachowicz R.S.: *Standaryzacja miary i system do pomiaru zdolności parowania skóry*.
- [39]. Eprus, *Urządzenia naukowe do diagnostyki skóry- instrukcja obsługi*.
- [40]. Aberg P.: *Skin cancer as seen by electrical impedance*, 2004.
- [41]. Kieć-Świerczyńska M., Chomiczewska-Skóra D., Świerczyńska-Machura D., Kręcisz B.: *Wpływ mokrego środowiska pracy na wybrane parametry bariery naskórkowej TEWL i zawartość oraz lepkość skóry u pielęgniarek.*, Med. Pracy 2014;65(5):609-619
- [42]. Harth Y., Lischinsky D.: *A novel method for real-time skin impedance measurement during radiofrequency skin tightening treatments*. J.Cosmet.Derm.,2011;10(1):24-9.
- [43]. Watanabe M., Tagami H., Horii I. i wsp.: *Functional analyses of the superficial stratum corneum in atopic xerosis*, Arch Dermatol 1991; 137: 1689-1692.
- [44]. Imhof R.E., De Jesus M.E. , Xiao P., Ciorrea L.I., Berg E.P.: *Closed-chamber transepidermal water loss measurement: microclimate, calibration and performance*. Int J Cosmet Sci 2009; 31(2): 97-118
- [45]. Schwindt D.A., Wilhelm K.P., Maibach H.L.: *Water diffusion characteristics of human stratum corneum at different anatomical sites in vivo*. Facial Plast Surg Clin North Am 2001; 3 (9): 377-382.
- [46]. Matts P., Hadgraf J., Lane M.: *Variation of stratum corneum biophysical and molecular properties with anatomic site*. APSJ2012;14(4):806-812.
- [47]. Wojas-Pelc A., Brudnik U.: *Nieinwazyjne metody oceny starzenia się skóry*. Derm Estet 2003; 1(5): 16-21.
- [48]. Black D., Pozo A., Lagarde J.: *Seasonal variability in the biophysical properties of stratum corneum from different anatomical sites*. Skin Tech 2000; 6:70-77.

- [49]. Machado M., Hadgraft J., Lane M.: *Assessment of the variation of skin barrier function with anatomic site, age, gender and ethnicity*. Int J Cosmet Sci 2010; 32:397-409.
- [50]. Wilhelm KP, Maibach HI.: *Transepidermal water loss and barrier function of ageing human skin [w:] Wilhelm KP, Elsner P, Berardesca E, Meibach HI. (eds.) Bioengineering of the skin: skin surface imaging and analysis*. CRC Press, Boca Raton, 1997: 181-196.
- [51]. Roskos K.V., Guy R.H.: *Assessment of skin barrier function using transepidermal water loss: effect of age*. Pharm Res 1989; 6(11): 949-953.
- [52]. Rougier A, Lotte C., Corcuff P., Maibach H.I.: *Relationship between skin permeability and corneocyte size according to anatomic site, age and sex in man*. J Soc Cosmet Chem 1988; 39: 15-26.
- [53]. Firooz A., Sadr B., Babakoochi S., I wsp.: *Variation of biophysical parameters of the skin with age, gender and body region*. Scientific World Journal 2012; 2012: 386936
- [54]. Cravello B., Ferri A.; *Relationships between skin properties and environmental parameters*. Skin Res Technol 2008; 14:180-186.
- [55]. Yosipovitch G., Xiong G.L., Haus E., Sackett-Lundeen L., Ashkenazi I., Maibach H.I.: *Timedependent variations of the skin barrier function in humans: transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH and skin temperature*. J Invest Dermatol 1998; 110:20-23.
- [56]. Egawa M., Ogumi M., Kuwahara T., Takahashi M.: *Effect of exposure of human skin to a dry environment*. Skin Res Technol 2002; 8: 212-218.
- [57]. O’Goshi K., Serup J.: *Inter-instrumental variation of skin capacitance measured with the Corneometer*. Skin Res Technol 2005; 11(2):107-109.
- [58]. Pinnagoda J., Tupker R.A., Wagner T., Serup J.; *Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the standardization group of the European society of contact dermatitis*. Contact Dermatitis 1990; 22: 164-178.
- [59]. Rogiers V.: *EEMCO Guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic science*. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol 2001; 14: 117-128.
- [60]. Vergou T., Schanzer S., Richter H. I wsp.: *Comparison between TEWL and laser scanning microscopy measurements for the in vivo characterization of the human epidermal barrier*. J Biophotonics 2012; 5(2): 152-158.
- [61]. Elkeeb R., Hui X., Chan H., Tian L., Maibach H.I.: *Correlation of transepidermal water loss with skin barrier properties in vitro: comparison of three evaporimeters*. Skin Res Technol 2010; 16(1): 9-15.

- [62]. Laudańska H., Reduta T.: *Ocena przepuszczalności skóry nieinwazyjną metodą pomiaru TEWL z rejestracją cyfrową*. Przegląd Dermatol. 1997; 84:27-33.
- [63]. Macierzyńska A., Pierzchała E.: *Wpływ fal elektromagnetycznych o wysokiej częstotliwości (RF) na poprawę elastyczności skóry*. Dermatol Estety2010,12:291299.
- [64]. Nangia A., Patil S., Berner B., Boman A., Maibach H.: *In vitro measurement of transepidermal water loss: a rapid alternative to tritiated water permeation for assessing skin barrier functions*. Int J Pha 1998;170:33-40.
- [65]. Hadgraf J., Lane M.E.: *Transepidermal water loss and skin site: a hypothesis*. Int J Pharm 2009; 373: 1-3.
- [66]. Ramos-e-Silva M., Jacques C.D.: *Epidermal barrier function and systemic diseases*. Clin Dermatol 2012; 30(3): 277-279.
- [67]. Farage M.A., Neill S., MacLean A.: *Physiological changes associated with the menstrual cycle*. Obstetr Gynecol Sur 2009; 1(64): 58-72.
- [68]. Tur E.: *Physiology of the skin-differences between women and man*. Clinics in Dermatology 1997; 15: 5-16.
- [69]. Garg A., Chren M.M., Sands L.P., Matusi M.S., Marenus K.D., Feingold K.R., Elias P.M.: *Psychological stress perturbs epidermal permeability barrier homeostasis: implications for the pathogenesis of stress-associated skin disorders*. Arch Dermatol 2001; 137: 53-59.
- [70]. Muizzuddin N., Matusi M.S., Marenus K.D., Maes D.H.: *Impact of stress of marital dissolution on skin barrier recovery: tape stripping and measurement of transepidermal water loss (TEWL)*. Skin Res Technol 2003; 9:34-38.
- [71]. Chuong C.M., Nickoloff B.J., Elias P.M. I wsp.: *What is the 'true' function of skin?* Exp Dermatol 2002; 11: 159-187.
- [72]. Placek W.: *Rola podłoża i emolientów w profilaktyce i przywracaniu bariery naskórkowej*. Derm Estet 1999; 1(4): 174-178.
- [73]. Sotoodian B., Maibach H.I.: *Noninvasive test methods for epidermal barrier function*. Clin Dermatol 2012; 30: 301–310.
- [74]. Kikuchi K., Aiba S., O’Goshi K. i wsp.: *Demonstration of characteristic skin surface contours of extramammary Paget’s disease arid parapsoriasis en plaque by image analysis of negative impression replicas*. J Dermatol Sci 2002; 30: 20-28.
- [75]. Dańczak-Pazdrowska A., Polańska A.: *Ultrasonografia skóry, Metody diagnostyczne w dermatologii, wenerologii i mikologii lekarskiej* pod red. Z. Adamskiego i A. Kaszuby, T.I, wyd. I, Lublin 2015, 77-90.

- [76]. Nowicki A.: *Wstęp do ultrasonografii. Podstawy fizyczne i instrumentacja*. MediPage, Warszawa 2004.
- [77]. Wortsman X.: *Sonography of facial cutaneous basal cell carcinoma: a first-line imaging technique*. J Ultrasound Med 2013; 32: 567-572.
- [78]. Gniadecka M., Jemec G.: *Quantitative evaluation of chronological ageing and photoageing in vivo: studies on skin echogenicity and thickness*. Br J Derm. 1998; 139:815-821.
- [79]. Waller J., Maibach H.: *Age and skin structure and function, a quantitative approach (I): blood flow, pH, thickness, and ultrasound echogenicity*. Skin ResTech 2005;11:221-235.
- [80]. Seidenari S., Pagnoni A., Di Nardo A., Giannetti A.: *Echographic evaluation with image analysis of normal skin: variations according to age and sex*. Skin Pharma;7:201-209.
- [81]. Szymańska E., Nowicki A., Mlosek K., Litniewski J., Lewandowski M., Secomski W.: *Skin imaging with high frequency ultrasound-preliminary results*. Eur J Ultras. 2000;12:91616.
- [82]. Korzekwa Sz.: *Zajrzeć pod skórę-obrazowanie ultrasonograficzne w medycynie estetycznej* Beauty Inspiration 3/2018.
- [83]. Soyer, H.P., Smolle, J., Leitinger, G. i wsp.: *Diagnostic reliability of dermoscopic criteria for detecting malignant melanoma*, Dermatology 1995; 190: 25–30.
- [84]. Huzaira M., Rius F., Rajadhyaksha M.: *Topographic variations in normal skin, as viewed by in vivo reflectance confocal microscop*, Invest Derm. 2001; 116: 846–852.
- [85]. Rukwied R., Zeck S., Schmelz M.: *Sensitivity of human scalp skin to pruritic stimuli investigated by intradermal microdialysis in vivo*, Acad Derma 2002;47:245-250.
- [86]. Sasai S., Ya-Xian Z., Suetake T., *Palpation of the skin with a robot finger: an attempt to measure skin stiffness with a probe loaded with a newly developed tactile vibration*.
- [87]. Czuwara J., Walkiewicz - Cyrańska B.: *Fale radiowe w dermatologii estetycznej czy zawsze znaczą to samo?* Derma News., 2009; 23:14 – 17.
- [88]. Mańkowska A., Kasprzak W.: *Fale o częstotliwości radiowej w fizykoterapii i kosmetologii*. Wyd. PZWL, Warszawa 2010.
- [89]. Gold M.H.: *Leczenie zmarszczek i elastory z użyciem radiofrekwencji dwubiegunowej z próżnią*. Dermatol. Kosmetol.,2007; 2(6), (2): 16 – 23.
- [90]. Huth J.: *Cosmetic radiofrequency*. Rev. Laryngol. Otol. Rhinol., 2010; 131(2):163.

- [91]. Kasprzak W., Mańkowska A.: *Fizykoterapia, medycyna uzdrowiskowa i SPA*. Wyd. PZWL, Warszawa 2008.
- [92]. Kasprzak W.: *Fizjoterapia w kosmetologii i medycynie estetycznej*, Warszawa 2010; PZWL, 113 (rozdz.12.7.): 181-182 (rozdz.16.1.), 236-237 (rozdz.17.8).
- [93]. Kmiec M. L.: *Znaczenie pomiarów parametrów czynnościowych skóry w ocenie funkcji bariery naskórkowej*, Journal of Health Study and Medicine nr 2 23-50, 2016.
- [94]. Robertson V., Ward A, Low J., Reed A.: *Fizykoterapia. Aspekty kliniczne i biofizyczne*. Urban and Partner, Wrocław 2006.
- [95]. Staniak .D, K. Sokołowski, Majcher P.: *Oddziaływanie pola elektromagnetycznego wielkiej częstotliwości na organizmy żywe*. Zdr. Publ. 2009;119(4):458-464.
- [96]. Garrett C.L., Draper D.O., Knight K.L.: *Heat distribution in the lower leg from pulsed shortwave diathermy and ultrasound treatments*. J Athl Train.2000 Jan;35(1):50-5.
- [97]. Giombini A., Casciello G., Di Cesare M.C., Di Cesare A., Dragoni S., Sorrenti D.: *A controlled study on the effects of hyperthermia at 434MHz and conventional ultrasound upon muscles injuries in sport*. J Sport Med Phys Fitness. 2001 Dec; 41(4):521-7.
- [98]. Ruiz-Esparza J.: *Nieablacyjna częstotliwość radiowa w odmładzaniu skóry twarzy i szyi-szybszy bezpieczniejszy i mniej bolesny zabieg oparty na koncentracji ciepła w okolicach kluczowych*. Dermatol. Kosmetol. 2006;2(2):196-203.
- [99]. Yokohama Y., Akita H., Hesegawa S., Negishi K., Akamatsu H., Matsunaga K.: *Histologig study of collagen and stem cells after radiofrequency treatment for aging skin*. Dermatol Surg 2014, 40: 390-397.
- [100]. Fijałkowska M., Gałązka A., Antoszewski B.: *Ocena skuteczności zabiegów wykorzystaniem fal radiowych*. Polish Journal of Cosmetology 2014.
- [101]. Szwedo J.: *Przegląd i podział urządzeń wykorzystujących energię RF (prądy wysokiej częstotliwości) w zabiegach nieinwazyjnych*. Dermatol Estet 2011, 2: 91-95
- [102]. Pisula-Lewandowska A.: *Fale radiowe przedłużają młodość*, Kosm.2008,78:10-12.
- [103]. Huth J.: *Cosmetic radiofrequency*. Rev Laryngol Otol Rhinol 2010, 131:163.
- [104]. Szwedo J.: *Analiza powikłań po zabiegach z użyciem fal elektromagnetycznych o wysokiej częstotliwości (RF) na podstawie literatury i doświadczeń własnych*. Dermatol Este 2010, 12:234-242.
- [105]. Yokohama Y., Akita H., Hesegawa S., Negishi K., Akamatsu H., Matsunaga K.: *Histologig study of collagen and stem cells after radiofrequency treatment for aging skin*. Dermatol Surg 2014, 40: 390-397.

- [106]. Rachel N., Pritzker M.D., K. Hamilton H.K., Dover J.S.: *Porównanie różnych technologii małoinwazyjnego zwiększania napięcia skóry*. SkinCare Physicians, Department of Dermatology, Brown Medical School, Providence, USA.
- [107]. Tanaka Y.: *Objective Assessment of skitightening using multisource, phase-controlled radiofrequency in Asian*, Jour. of Cosm, Derm. Sciences and Applic., 2013, 3 11-116.
- [108]. Zelickon D.B., Kist D., Bernstein E. i wsp.: *Histological and ultrastructural evaluation of the effects of a radiofrequency-based nonablative dermal remodeling device: a pilot study*. Arch Dermatol, 2014, 140 (2): 204-209.
- [109]. Hsu T.S. Kaminer M.S.: *The use of nonablative radiofrequency technology to tighten the lower face and neck*. Semin Cutan Med Surg 2003;22 (2): 115-123.
- [110]. Alster T.S. Tanzi E.: *Improvement of neck and cheek laxity with nonablative radiofrequency device: a lifting experience*. Derm.2004 Apr; 30 (4 Pt 1): 503-507.
- [111]. Nahm W.K., Su T.T., Rotunda A.M i wsp.: *Objective changes in brow position superior palpebral crease, peak angle of the eyebrow, and jowl surface area after volumetric radiofrequency treatments on half of the face*. Dermatol Surg 2004; 30 (6): 922-928.
- [112]. Taub A.F., Tucker R.D. Palange A.: *Facial tightening with an advanced 4MHz monopolar radiofrequency device*. J Drugs Dermatol 2002, 11i (11):1288-1294.
- [113]. Alexiades-Armenakas M., Dover J.S., Arndt K.A.: *Unipolar versus bipolar radiofrequency treatment of rhytides and laxity using a mobile painless delivery method*. Lasers Surg Med 2008; 40 (7): 446-453.
- [114]. Friedman D.J., Gilead L.T.: *The use of hybrid radiofrequency device for the treatment of rhytides and lax skin*. Dermatol Surg 2007;33 &f. 543-551.
- [115]. Krueger K., Levy H., Sadick N.S.: *Safety and efficacy of a new device combining radiofrequency and low-frequency pulsed electromagnetic fields for the treatment of facial rhytides*. J Drugs Dermatol 2012; 11 (11): 1306-1309.
- [116]. Hruza G., Taub A.F., Collier S.L.i wsp.: *Skin rejuvenation and wrinkle reduction using a fractional radiofrequency system*. J Drugs Dermatol 2009;8 (3): 259-65.
- [117]. Goldberg D., Hussain M.: *Fractional ablative radiofrequency: clinical and histologic evaluation of 3 different electrode tips*. Lasers Surg Med 2013; 44 (Suppl 24): 12.
- [118]. Hruza G., Taub A.F., Collier S.L.i wsp.: *Skin rejuvenation and wrinkle reduction using a fractional radiofrequency system*. J Drugs Dermatol 2009;8 (3): 259-65.
- [119]. Abraham M.T, Ross V.: *Current concepts in nonablative radiofrequency rejuvenation of the lower face and neck*. Facial Plast. Surg., 2005 Feb, 21(1):65.

- [120]. Paasch U., Bodendorf M., Grunewald S., Simon J.: *Skin rejuvenation radiofrequency therapy: methods, effects and risk*. J Dtsch Dermatol 2009,7:196-203.
- [121]. Shapiro S., Eros Y., Abrahami Y., Leviav A.: *Evaluation of safety and efficacy of the TriPollar technology for treatment of wrinkles*. Lasers Surg Med 2012,44:453-458.
- [122]. Elsaie M.L.: *Cutaneous remodelling and photorejuvenation using radiofrequency devices*. Indian J. Dermatol., 2009 May; 33 930:283-94 Epub 2009 May 13.
- [123]. Kikuchi K., Kobayashi H., Le Fur I. i wsp.: *The winter season affects more severely the facial skin than the forearm skin: Comparative biophysical studies conducted in the same Japanese females in late summer and winter*, Exo Dermatol 2002;1:32-38.
- [124]. Wollina U.: *Treatment of facial skin laxity by a new monopolar radiofrequency device*. J Cutan Aesthet Surg. 2011;4:7-11.
- [125]. Royo de la Torre J. i wsp.: *Multisource, phase-controlled radiofrequency for treatment of skin laxity: Correlation between clinical and in-vivo confocal microscopy results and real-time thermal changes*. J Clin Aesthet Dermatol. 2011 Jan;4(1):28-35.
- [126]. Nark-Kyoung Rho, Jeoung-yeop Lee i wsp. *Preliminary results a clinical trial using a novel intralesional fractional radiofrequency device for deep dermal heating of facial skin*. Leaders Aesthetic Laser and Cosmetic Surgery Center, Seoul Korea 2010.
- [127]. Schnetz E., Kuss O., Schmidt J., Diepgen T.L., Kuhn M., Fartach M.: *Intraand Inter-individual variations in transepidermal water loss on the face: Facial locations for bioengineering studies*. Contact Dermatitis 1999; 40:243-247.
- [128]. Mimari - *instrukcja obsługi kombajnu kosmologicznego*, Wrocław 2014.
- [129]. Porter G.T., Quinn F.B.: *Preoperative Evaluation of the Aesthetic Patient 2004*, <http://www2.utmb.edu/otoref/Grnds/Preop-eval-2004-0421/Preop-eval-slides-2004-0421.pdf>, 20.08.2010.
- [130]. Clifford M., Walster E.: *The Effect of Physical Attractiveness on Teacher Expectations*. Sociol. Edu. 1973, 248-58.
- [131]. Riniolo T.C., Johnson T.R., Misso J.A.: *Hot or Not: Do Professors Perceived as Physically Attractive Receive Higher Student Evaluations*. J. G.Psych. 2006, 19-35.
- [132]. Rhodes G., Simmons B., Leigh W., Peters M.: *Attractiveness and sexual behavior: Does attractiveness enhance mating success?* Evol. Human. Behav., 2005, 186-201.
- [133]. Markey C.N., Markey P.M.: *Romantic Relationship and Body Satisfaction Among Yang Women*. J. Youth Adoles. 2006, 256-64.
- [134]. Marlowe C., Schneider S., Nielson C.: *Gander and attractiveness biases in hiring decisions: Are more experienced managers less biased?* J. Psychol., 1996, 11-21.

- [135]. Cash T.F., Dipboye R., Arvey R.: *Sex and physical attractiveness of raters and applicants as determinants of resume evaluations*. J. Appl. Psych., 1977, 288–94.
- [136]. Hamermes D., Biddle J.: *Beauty and the Labor Market*. Am. Econ. 1994, 74–94.
- [137]. Feingold A.: *Good-looking people are not what we think*. Psych. Bull. 1992, 304–341.
- [138]. el-Domyati M., el-Ammawi T.S., Medhat W., Moawad O., Brennan D., Mahoney M.G., Uitto J.: *Radiofrequency facial rejuvenation: Evidence-based effect*, J. Am. Acad. Dermatol. 2011 Mar; 64(3):524-35.
- [139]. Sean A. Sukal i wsp; *Thermage: the nonablative radiofrequency for rejuvenation*
- [140]. Hyuck H. Kwon i wsp., *Combined treatment for skin laxity of the aging face with monopolar radiofrequency and intense focused ultrasound in Korean subjects* 16 Dec 2017, Published online: 22 Feb 2018.
- [141]. Wroński A.A.: *Odmladzanie twarzy metodą punktowej radioterapii 3D*. Dermatol. Estet. 2013, 3:198-204.
- [142]. Pritzker N.R., Hamilton H.K., Dover, J.S.: *Porównanie różnych technologii małoinwazyjnego zwiększania napięcia skóry*. Department of Dermatology, Brown Medical School, Providence, USA.
- [143]. Alster TS, Tanzi E.: *Improvement of neck and cheek laxity with a nonablative radiofrequency device: a lifting experience*. Dermatol Surg 2004;30:503-7.
- [144]. Ruiz-Esparza J.: *Nonablative radiofrequency for facial and neck rejuvenation. A faster, safer, and less painful procedure based on concentrating the heat in key areas: the ThermoLift concept*. J Cosmet Dermatol 2006;5:68-75.
- [145]. Alster T.S., Lupton J.R.: *Nonablative cutaneous remodeling using radiofrequency devices*. Clin Dermatol 2007;25:487-91.
- [146]. Atiyeh B.S., Dibo S.A.: *Nonsurgical nonablative treatment of aging skin: radiofrequency technologies between aggressive marketing and evidence-based efficacy*. Aesthetic Plast Surg 2009;33:283-94.4.
- [147]. Bogle M.A., Ubelhoer N., Weiss R.A., Mayoral F., Kaminer M.S.: *Evaluation of the multiple pass, low fluence algorithm for radiofrequency tightening of the lower face*. Lasers Surg Med 2007;39:210-7.
- [148]. Gold M., Goldman M., Rao J., Carcamo A., Ehrlich M.: *Leczenie zmarszczek i elastozoy z użyciem radiofrekwencji dwubiegunowej z próżnią*. DermKosm 2007, 6:16-24.

- [149]. Mlosek R.K.: *Skuteczność terapii antycellulitowej urządzeniem V*-Shape, monitorowana przy użyciu ultrasonografii wysokich częstotliwości. Doświadczenia własne.* Dermatol. Estet. 2012, 14:286-292.
- [150]. Gold M. H., Tsung Hua Tsai, Sung Jan Lin, Woan Ruoh Lee, Chun Chin Wang, Chih Ting Hsu, Thomas Chu, Chen Yuan Dong: *Visualizing radiofrequency–skin interaction using multiphoton microscopy in vivo.* Journal Journal of Dermatological Science Vol. 65, 95-101 Published - Feb 2012.
- [151]. Sean A. Sukal R.G.: *Thermage: the nonablative radiofrequency for rejuvenation,* Clin Dermatol. 2008 Nov-Dec;26(6):602-7.
- [152]. Hyuck H. Kwon i wsp.: *Combined treatment for skin laxity of the aging face with monopolar radiofrequency and intense focused ultrasound in Korean, subjects* 16 Dec 2017, Published online: 22 Feb 2018
- [153]. Song H.H.: *Usefulness of Monopolar Thermal Radiofrequency Treatment for Periorbital Wrinkles.* Ann Dermatol. 2018 Jun;30(3):296-303.
- [154]. Dover J.S., Zelickson B.: *Physician multispecialty consensus P: results of a survey of 5700 patient monopolar radiofrequency facial skin tightening treatments: assessment of a low-energy multiple-pass technique leading to a clinical end point algorithm.* Dermatol. Surg. 2007;33(900–7).
- [155]. Schnetz E., Kuss O., Schmidt J., Diepgen T.L., Kuhn M., Fartach M.: *Inter-individual variations in transepidermal water loss on the face: Facial locations for bioengineering studies.* Contact Dermatitis 1999; 40:243-247.
- [156]. Le Fur I., Reinberg A., Lopez S., Morizot F., Mechkouri M., Tschachler E.: *Analysis of circadian and ultradian rhythms of skin surface properties of face and forearm of healthy women.* J Invest Dermatol 2001; 117: 718-724.
- [157]. Pinnagoda J., Tupker R.A., Wagner T., Serup J.: *Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the standardization group of the European society of contact dermatitis.* Contact Dermatitis 1990; 22: 164-178.
- [158]. Ramos-e-Silva M., Jacques C.D.: *Epidermal barrier function and systemic diseases.* Clin Dermatol 2012; 30(3): 277-279.
- [159]. Williams M., Cunliffe W., Williamson B., Forster R., Cotterill J., Edwards J.: *The effect of local temperature changes on sebum excretion rate and forehead surface lipid composition.* Br J Dermatol 1973; 88(3): 257-62.
- [160]. Farage M.A, Neill S., Mac Lean A.: *Physiological changes associated with the menstrual cycle.* Obstetr Gynecol Sur 2009; 1(64): 58-72.

- [161]. Tur E.: *Physiology of the skin – differences between women and man*. Clinics in Dermatology 1997; 15: 5-16.
- [162]. Kleesz P., Darlenski R., Fluhr J.W.: *Full-body skin mapping for six biophysical parameters: baseline values at 16 anatomical sites in 125 human subjects*. Skin Pharmacol Physiol 2012; 25(1): 25-33.
- [163]. Garg A., Chren M.M., Sands L.P., Matusi M.S., Marenus K.D., Feingold K.R., Elias P.M.: *Psychological stress perturbs epidermal permeability barrier homeostasis: implications for the pathogenesis of stress-associated skin disorders*. Arch Dermatol 2001; 137: 53-59.
- [164]. Muizzuddin N., Matusi M.S., Marenus K.D., Maes D.H.: *Impact of stress of marital dissolution on skin barrier recovery: tape stripping and measurement of trans-epidermal water loss (TEWL)*. Skin Res Technol 2003; 9:34-38.
- [165]. Chuong C.M., Nickoloff B.J., Elias P.M. I wsp.: *What is the 'true' function of skin?* Exp Dermatol 2002; 11: 159-187.
- [166]. Placek W.: *Rola podłoża i emolientów w profilaktyce i przywracaniu bariery naskórkowej*. Derm Estet 1999; 1(4): 174-178.
- [167]. Sotoodian B., Maibach H.I.: *Noninvasive test methods for epidermal barrier function*. Clin Dermatol 2012; 30: 301–310.
- [168]. Cork M.J., Danby S.G., Vasilopoulos Y., Hadgraft J., Lane M.E., Moustafa M., Guy R.H., Macgowan A.L., Tazi-Ahnini R., Ward S.J.: *Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis*. J Invest Dermatol. 2009 Aug;129 (8): 1892-908.
- [169]. Addor F.A., Aoki V.: *Skin barrier in atopic dermatitis*. An Bras Dermatol. 2010 Mar-Apr;85(2):184-94.
- [170]. Chomiczewska D., Kieć-Świerczyńska M., Beata Kręcisz B.: *Kontaktowe zapalenie skóry z podrażnienia, cz. III. Nieinwazyjne metody oceny właściwości biofizycznych skóry*. Medycyna Pracy 2010;61(4):457–466
- [171]. Darlenski R., Sassning S., Tsankov N., Fluhr J.W.: *Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties*. Eur J Pharm Biopharm. 2009 Jun; 72(2):295-303. doi: 10.1016/j.ejpb.2008.11.013. Epub 2008 Dec 11.
- [172]. Moshell, A.B. Kimball, Linder M.D.: *Dermatological Diseases and Cumulative Life Course Impairment* 2005
- [173]. Friedman D.J., Gilead L.T.: *The use of hybrid radiofrequency device for the treatment of rhytides and lax skin*. Dermatol Surg 2007;33 &f. 543-551.

- [174]. Zhenlong Z., Dannaker Ch., Lee S.E., Jin-Soo Kang J.S., Choa S.B.: *Electromagnetic Initiation and Propagation of Bipolar Radiofrequency Tissue Reactions via Invasive Non-Insulated Microneedle Electrodes*, Sci Rep. 2015; 5: 16735.
- [175]. Jun Huang: *Clinical and Histological Studies of Suborbital Wrinkles Treated with Fractional Bipolar Radiofrequency Rejuvenation*. Rese.Vol. 21, No. 2.
- [176]. Kwon H.H., Park H.Y., Choi S.C., Bae Y., Jung J.Y., Park G.H.: *Novel device-based acne treatments: comparison of a 1450-nm diode laser and microneedling radiofrequency on mild-to-moderate acne vulgaris and seborrhoea in Korean patients through a 20-week prospective, randomized, split-face study*. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2018 Apr;32(4):639-644.
- [177]. Aniseh Samadi: *Combination of Fractional Radiofrequency and Thermo-Contraction Systems for Facial Skin Rejuvenation: A Clinical and Histological Study* Aesthetic Surgery Journal, 20 June 2018.
- [178]. Hantash B.M., Ubeid A.A., Chang H., Kafi R., Renton B.: *Bipolar fractional radiofrequency treatment induces neoelastogenesis and neocollagenesis*. Lasers Surg Med 2009;41(1–9).
- [179]. Sun Y., Chen W.L, Lin S.J, Jee S.H, Chen Y.F, Lin L.Cet i wsp.: *Investigating mechanisms of collagen thermal denaturation by high resolution second harmonic generation imaging*. Biophys J 2006;91(2620–5).
- [180]. Lin S.J., Hsiao C-Y, Sun Y, Lo W, Lin W-C, Jan G-J, et al.: *Monitoring the thermally induced structural transitions of collagen by use of second-harmonic generation microscopy*. Opt Lett 2005;30(622–4).
- [181]. Lin S.J., Lo W., Tan H.Y., Chan J.Y., Chen W.L., Wang S.H. i wsp.: *Prediction of heatinduced collagen shrinkage by use of second harmonic generation microscopy*. J Biomed Opt 2006;11(34020).
- [182]. Bernstein D., Farberg A., Khorasani H., Kriegel D.: *Noninvasive Body Contouring: Literature Review and Summary of Objective Data, In - depth reviews* , Department of Dermatology, Division of Dermatologic and Cosmetic Surgery, Vol. I, 2017.

14. Spis rycin

- Rycina 1. Budowa naskórka oraz elementów NMF (źródło: Noszczyk M.: *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska*, Wyd. PZWL Warszawa, 2010)
- Rycina 2. Kierunek przepływu wody przez skórę (źródło: Noszczyk M.: *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska*, Wyd. PZWL Warszawa, 2010)
- Rycina 3. Granica skórno-naskórkowa (źródło: Noszczyk M.: *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska*, Wyd. PZWL Warszawa, 2010)
- Rycina 4. Schemat obrazujący produkcję kolagenu i wpływ wieku na zmiany jego poziomu u człowieka [4] [źródło: Surdyk J.]
- Rycina 5. Czynniki indukujące ekspresję białek szoku termicznego (źródło: Arbeiter K., Bidmon B., Endeman M.: *Induction of mesothelial HSP-72 upon in vivo exposure to peritoneal dialysis fluid*. Perit. Dial. It. 2003 23,499)
- Rycina 6. Maska Marquardt'a (archetypal mask) (źródło: Wasiluk M.: *Medycyna estetyczna bez tajemnic*. Wyd. PZWL Warszawa, 2016)
- Rycina 7. Unaczynienie i unerwienie skóry twarzy (źródło: Radlanski R.J., Wesker K. H. *Twarz. Atlas anatomii klinicznej*. Quintessence Publishing, Warszawa, 2015)
- Rycina 8. Linie zmniejszonego napięcia skórno-tętna w obrębie twarzy (źródło: Radlanski R.J., Wesker K. *Twarz. Atlas anatomii klinicznej*. Quintessence Publishing W-a, 2015)
- Rycina 9. Zmiany konformacyjne tkanek w obrębie twarzy (źródło: Baumann L., *Dermatologia Estetyczna*. Wyd. PZWL Warszawa, 2013)
- Rycina 10. Objawy skóry dojrzałej (źródło: Radlanski R.J., Wesker K. H. *Twarz. Atlas anatomii klinicznej*. Quintessence Publishing Warszawa, 2015)
- Rycina 11. Przepływ prądu przez tkankę żywą (źródło: Tarapata G., Weremczuk J., Jachowicz R.S., *Standaryzacja miary i system do pomiaru zdolności parowania skóry*)
- Rycina 12. Podstawowy obwód zastępczy opisujący tkankę żywą (źródło: Tarapata G., Weremczuk J., Jachowicz R.S., *Standaryzacja miary i system do pomiaru zdolności parowania skóry*)
- Rycina 13. Dyspersja impedancji w tkance żywej (źródło: Tarapata G., Weremczuk J., Jachowicz R.S., *Standaryzacja miary i system do pomiaru zdolności parowania skóry*)

- Rycina 14. Rycina.14. Wykres dla widm impedancji (1,22 kHz do 1 MHz) przed strippingiem taśmy, po 30,60 oraz 90 zerwaniach taśmy (źródło: Aberg P.: *Skin cancer as seen by electrical impedance*, 2004)
- Rycina 15. Proces parowania skóry (źródło: Tarapata G., Weremczuk J., Jachowicz R.S *Standaryzacja miary i system do pomiaru zdolności parowania skóry*)
- Rycina 16. Obraz profilometrii skóry (źródło: *laboratorium.eprus.pl/urzedzenianaukowe*)
- Rycina 17. Ultrasonograficzny obraz skóry widocznymi jej trzema warstwami: echem naskórka, skórą właściwą, tkanką podskórną: A. obraz wykonany ultrasonografem klasycznym z głowicą liniową; B. obraz wykonany ultrasonografem wysokich częstotliwości z głowicą mechaniczną, C. obraz cellulitu (źródło: R. K. Mlosek, *Zajrzeć w głąb skóry. Zatrzymaj młodość*)
- Rycina 18. Proces odnowy włókien kolagenowych pod wpływem działania częstotliwości radiowych (źródło: Noszczyk M: *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska*, Wyd. PZWL Warszawa, 2010)
- Rycina 19. Metoda monopolarna (źródło: Noszczyk M., *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska*, Wyd. PZWL Warszawa, 2010)
- Rycina 20. Metoda bipolarna (źródło: Noszczyk M., *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska*, Wyd. PZWL Warszawa, 2010)
- Rycina 21. Głębokość penetracji skóry, przez piny podczas frakcyjnej radiofrekwencji mikroigłowej (źródło: *beautypremium.pl/pielegnacja-twarzy*)
- Rycina 22. Schemat zmian w skórze właściwej po zastosowaniu frakcyjnej radiofrekwencji mikroigłowej (źródło: *dolcemedical.pl*)
- Rycina 23. Schemat wyznaczania punktów pomiarowych na twarzy
- Rycina 24. Urządzenie Multi Skin Test Center MC 750 firmy Courage & Khazaka.
Electronic wraz z sondami do pomiaru parametrów czynnościowych skóry
[opracowanie własne]
- Rycina 25. Sonda do pomiaru funkcji barierowej warstwy rogowej naskórka TEWL
MC 750 Courage & Khazaka [opracowanie własne]
- Rycina 26. Sonda do korneometrii MC 750, Courage & Khazaka [opracowanie własne].
- Rycina 27. Urządzenie Radio Frequency BN-300 firmy Beauty System [opracowanie własne]
- Rycina 28. Kombajn kosmologiczny firmy Mimari z głowicami do radiofrekwencji bipolarnej [opracowanie własne]

- Rycina 29. Głowica na okolice twarzy (A), głowica na okolice oczu (B) [opracowanie własne]
- Rycina 30. Wykonanie zabiegu radiofrekwencji bipolarnej [opracowanie własne]
- Rycina 31. Średnie efekty terapii w grupach wiekowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB
- Rycina 32. Średnie efekty terapii w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB
- Rycina 33. Średnie wyniki pomiaru TEWL w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB
- Rycina 34. Średnie efekty w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj terapii metodą RFM, RFB i grupę wiekową
- Rycina 35. Średnie efekty działań terapii częstotliwościami radiowymi w zależności od metody RFM oraz RFB
- Rycina 36. Średnie efekty działania metod RFM, RFB w grupach wiekowych podczas 4 miesięcznej terapii
- Rycina 37. Średnie wyniki pomiaru korneometrycznego w grupach wiekowych mierzone przed i po zabiegu
- Rycina 38. Średnie efekty działań terapii w grupach wiekowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB
- Rycina 39. Średnie efekty działania terapii w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB
- Rycina 40. Średnie wyniki pomiaru korneometrycznego w badanych punktach czasowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB
- Rycina 40a. Średnie efekty pomiaru korneometrycznego w badanych punktach czasowych, grupach wiekowych z podziałem na rodzaj metody RFM oraz RFB
- Rycina 41. Związek między pomiarami TEWL i pomiarami korneometrycznymi wykonanymi przed rozpoczęciem terapii
- Rycina 42. Związek między pomiarami TEWL i pomiarami korneometrycznymi wykonanymi po 4 miesiącach terapii
- Rycina 43. Związek między pomiarami TEWL przed rozpoczęciem terapii a wiekiem probantek
- Rycina 44. Związek między pomiarami korneometrycznymi przed rozpoczęciem terapii a wiekiem probantek
- Rycina 45. Źródła pozyskiwania informacji o zabiegach kosmetologicznych

- Rycina 46. Wcześniej prowadzona pielęgnacja domowa
- Rycina 47. Fototypy skóry w grupie badanej w skali Fitzpatrick'a
- Rycina 48. Rodzaje cer występujące w grupie badanej
- Rycina 49. Wskazane przesuszone obszary skóry twarzy
- Rycina 50. Przyczyny przesuszenia skóry twarzy
- Rycina 51. Subiektywny czas utrzymywania się przesuszenia skóry twarzy
- Rycina 52. Częstotliwość stosowania fotoprotekcji we wszystkich grupach wiekowych
- Rycina 53. Postępowanie w przypadku utrzymywania się przesuszenia skóry
- Rycina 54. Wcześniej stosowane zabiegi kosmetyczne
- Rycina 55. Stopień subiektywnego odczucia nawilżenia skóry po terapii częstotliwościami radiowymi
- Rycina 56. Stopień subiektywnej poprawy uelastycznienia
- Rycina 57. Ocena skuteczności terapii częstotliwościami radiowymi obserwowana w czasie
- Rycina 58. Występowanie objawów starzenia się skóry twarzy
- Rycina 59. Efekty terapii częstotliwościami radiowymi metodą monopolarną w obszarze całej twarzy, po jednym zabiegu (A: przed zabiegiem, B: po zabiegu)
[opracowanie własne]
- Rycina 60. Efekty terapii częstotliwościami radiowymi metodą bipolarną w obszarze twarzy i szyi, po jednym zabiegu (A: przed zabiegiem, B: po zabiegu) [opracowanie własne]
- Rycina 61. Efekty terapii częstotliwościami radiowymi metodą bipolarną w okolicach oczu, po jednym zabiegu (A: przed zabiegiem, B: po zabiegu)
[opracowanie własne]
- Rycina 62. Efekty terapii częstotliwościami radiowymi metodą mikroigłową z elektroporacją (A: bezpośrednio po zabiegu, B: miesiąc po zabiegu)
[opracowanie własne]

15. Spis tabel

Tabela 1. Skład naturalnego czynnika nawilżającego NMF

Tabela 2. Główne typy włókien kolagenowych w skórze właściwej człowieka

Tabela 3. TEWL przed zabiegiem oraz po zabiegu - ANOVA z pomiarami powtarzanymi

Tabela 4. Średnie arytmetyczne (M) różnicy pomiarów metodą RFM a RFB (M) oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od grupy wiekowej

Tabela 5. Średnie arytmetyczne (M) różnicy pomiarów oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od czasu trwania terapii metody RFM oraz RFB

Tabela 6. Średnie arytmetyczne (M) różnicy pomiarów oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od metody RFM, RFB i czasu trwania terapii

Tabela 7. Pomiar korneometryczny po zabiegu – pomiar korneometryczny przed zabiegiem - ANOVA z pomiarami powtarzanymi

Tabela 8. Średnie arytmetyczne (M) różnicy pomiarów oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od terapii metodą RFM oraz RFB, w trakcie 4-miesięcznej terapii

Tabela 9. Pomiar korneometryczny po zabiegu - pomiar korneometryczny przed zabiegiem - TEWL przed zabiegiem - TEWL po zabiegu - średnie arytmetyczne (M) oraz 95% przedział ufności w zależności od grupy wiekowej

Tabela 10. Pomiar korneometryczny po zabiegu – pomiar korneometryczny przed zabiegiem – średnie arytmetyczne (M) oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od metody i grupy wiekowej

Tabela 11. Pomiar korneometryczny po zabiegu – pomiar korneometryczny przed zabiegiem - średnie arytmetyczne (M) oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od czasu trwania terapii

Tabela 12. Pomiar korneometryczny po zabiegu - pomiar korneometryczny przed zabiegiem - średnie arytmetyczne (M) oraz 95% przedział ufności ($\pm 95\%$ PU) w zależności od metody RFM oraz RFB i czasu trwania terapii

16. Załączniki

Załącznik nr 1

ZGODA KOMISJI BIOETYCZNEJ

UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu



Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 1091/16

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentyisty (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. 2008 Nr 45, poz. 271 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 843); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem zdrowych ludzi (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 15 listopada 2010 r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 15 listopada 2010 r. w sprawie wzorów wniosków przedkładanych w związku z badaniem klinicznym, wysokości opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 222 poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. 2010r. nr 107 poz. 679, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. 2010, Nr 194 poz. 1290); Ustawa z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (Dz. U. 2011 nr 82 poz. 451); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 0 poz. 491); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznym z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 10 listopada 2016 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu:

prof. dr hab. Leszek Kubisz

Miejsce prowadzenia badań:

Katedra Biofizyki Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Główny badacz: Agata Skalska- Stochaj

Członkowie zespołu

badawczego: prof. dr hab. Leszek Kubisz

Temat badań:

„Ocena wpływu zabiegu radiofrekwencji na wybrane właściwości biofizyczne skóry”.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

Przewodniczący Komisji

prof. zw. dr hab. med. Paweł Chęciński

Załącznik nr 2

FORMULARZ ŚWIADOMEJ ZGODY NA UDZIAŁ W BADANIU

Imię i nazwisko:.....

Data urodzenia:.....

Numer telefonu:.....

Ja niżej podpisana oświadczam, że:

1. Przeczytałam i zrozumiałam wszelkie informacje dotyczące celu i zasad badania. Informacja przekazana była rzetelna, wyczerpująca i jest dla mnie w pełni jasna oraz zrozumiała.
2. Zgadzam się na udział w badaniu i na wykonanie wymaganych w nim procedur.
3. Zostałam poinformowana o możliwych efektach zabiegu w moim przypadku, spodziewanych korzyściach i grożących mi ujemnych skutkach oraz prawdopodobieństwie ich powstania.
4. Zostałam poinformowana o przeciwwskazaniach do wykonania zabiegu, technice i sposobie przeprowadzenia zabiegu, sposobie postępowania po zabiegu, czasie utrzymywania się osiągniętego rezultatu, czasie po upływie, którego powinien zostać przeprowadzony kolejny zabieg, minimalnej ilości zabiegów, niezbędnych do utrzymania efektu.
5. Udzielono mi również informacji o zasadach pielęgnacji, jej ograniczeniach i ochrony skóry w warunkach domowych, a niestosowanie się do nich może wpłynąć na efekt zabiegu.
6. Jestem świadoma, że wystąpienie negatywnych następstw i powikłań, o których zostałam poinformowana przed wykonaniem zabiegu nie uprawia mnie do roszczeń odszkodowawczych.
7. Przed rozpoczęciem zabiegu udzieliłam pełnych i prawdziwych odpowiedzi na pytania, które zadawano mi w trakcie wywiadu.
8. Zostałam poinformowana, że administratorem danych związanych z badaniem będzie placówka, w której prowadzony jest eksperyment. Przed podpisaniem dokumentu zostałam poinformowana o sposobie przetwarzania danych pochodzących z badania oraz że dane te, zbierane są wyłącznie w celach analizy naukowej.
9. Wyrażam zgodę na przetwarzanie moich danych osobowych na potrzeby wyżej wymienionego badania, zgodnie z obowiązującym w Polsce prawem (Ustawą z dnia 29.08.1997 O Ochronie Danych osobowych Dz. Ust. Nr 133 poz. 83).
10. Otrzymałam zadowalające odpowiedzi na wszystkie zadane przeze mnie pytania.
11. Jestem świadoma możliwości odstąpienia od udziału w badaniu na każdym etapie jego trwania, bez podania przyczyny.
12. Otrzymałam kopię niniejszego oświadczenia opatrzoną czytelnym podpisem i datą.
13. Oświadczam, że zapoznałam się powyższym tekstem i wyrażam świadomą zgodę na wykonanie zabiegu.

.....
Data i czytelny podpis badacza

.....
Data i czytelny podpis probanta

Załącznik nr 3

KARTA BADANIA PROBANTA

Nr badania/201.. , data badania.....201.,.....201.,.....201.....

Przygotowanie pomieszczenia do badań: temp.....°C, wilgotność.....%, oświetlenie.....

Przygotowanie probanta do badań:

1.	Płeć	<input type="checkbox"/> kobieta <input type="checkbox"/> mężczyzna
2.	Wiek	<input type="checkbox"/> 20-29 lat <input type="checkbox"/> 30-39 lat <input type="checkbox"/> 40-49 lat <input type="checkbox"/> 50-59 lat <input type="checkbox"/> 60-69 lat
3.	Obszar badania	<input type="checkbox"/> twarz <input type="checkbox"/> szyja <input type="checkbox"/> dekolt
4.	Badanie palpacyjne	<input type="checkbox"/> 1-2 sek. <input type="checkbox"/> 3-4 sek. <input type="checkbox"/> 5-6 sek.
5.	Diagnoza wzrokowa	<input type="checkbox"/> zmarszczki <input type="checkbox"/> bruzdy <input type="checkbox"/> brak zmian
6.	Cechy skóry	<input type="checkbox"/> hiperpigmentacja <input type="checkbox"/> mieszana <input type="checkbox"/> tłusta <input type="checkbox"/> sucha <input type="checkbox"/> wrażliwa <input type="checkbox"/> cienka
7.	Skala Fitzpatrick'a	<input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> II <input type="checkbox"/> III <input type="checkbox"/> IV <input type="checkbox"/> V <input type="checkbox"/> VI
8.	Pielęgnacja domowa	<input type="checkbox"/> mleczko <input type="checkbox"/> tonik <input type="checkbox"/> płyn micelarny <input type="checkbox"/> preparat do demakijażu <input type="checkbox"/> krem nawilżający <input type="checkbox"/> krem pod oczy <input type="checkbox"/> serum <input type="checkbox"/> brak
9.	Alergie	<input type="checkbox"/> pokarmowa <input type="checkbox"/> wziewna <input type="checkbox"/> na kosmetyki <input type="checkbox"/> brak
10.	Implanty	<input type="checkbox"/> stymulator <input type="checkbox"/> rozrusznik <input type="checkbox"/> mostek <input type="checkbox"/> śruby <input type="checkbox"/> brak
11.	Inne	<input type="checkbox"/> szkła kontaktowe <input type="checkbox"/> wkładka wewnątrzmaciczna <input type="checkbox"/> brak
12.	Stan hormonalny	<input type="checkbox"/> menstruacja <input type="checkbox"/> ciąża <input type="checkbox"/> karmienie piersią <input type="checkbox"/> żadne z powyższych <input type="checkbox"/> menopauza
13.	Nowotwory	<input type="checkbox"/> przed 2 latami <input type="checkbox"/> przed 5 latami <input type="checkbox"/> przed 10 latami <input type="checkbox"/> nie dotyczy
14.	Przebyte choroby układów	<input type="checkbox"/> pokarmowego <input type="checkbox"/> oddechowego <input type="checkbox"/> moczowego <input type="checkbox"/> endokrynologicznego <input type="checkbox"/> nie dotyczy
15.	Przebyte choroby skóry	<input type="checkbox"/> stany zapalne <input type="checkbox"/> grzybice <input type="checkbox"/> wirusowe <input type="checkbox"/> bakteryjne <input type="checkbox"/> łuszczyca <input type="checkbox"/> kolagenozy <input type="checkbox"/> żadne z powyższych
16.	Inne choroby	<input type="checkbox"/> HIV <input type="checkbox"/> AIDS <input type="checkbox"/> astma <input type="checkbox"/> gruźlica <input type="checkbox"/> zapalenie płuc <input type="checkbox"/> epilepsja <input type="checkbox"/> zmiany naczyniowe <input type="checkbox"/> gorączka <input type="checkbox"/> stwardnienie rozsiane <input type="checkbox"/> żadne z powyższych
17.	Styl życia	<input type="checkbox"/> dieta <input type="checkbox"/> papierosy <input type="checkbox"/> alkohol <input type="checkbox"/> narkotyki <input type="checkbox"/> solarium <input type="checkbox"/> żadne z powyższych

Załącznik nr 4

4a. Protokół zabiegowy radiofrekwencji monopolarnej

PROTOKÓŁ ZABIEGOWY RADIOFREKWENCJI MONOPOLARNEJ		
1.	Przygotowanie stanowiska pod względem bezpieczeństwa podczas zabiegu i badań.	
2.	Przygotowanie niezbędnych, preparatów i przyborów.	
3.	Przeprowadzenie szczegółowego wywiadu kosmetologicznego.	
4.	Stwierdzenie braku ograniczeń do badania, wypełnienie karty badania.	
5.	Wypełnienie i podpisanie formularza świadomej zgody na udział w badaniu.	
6.	Ściągnięcie przez probanta metalowych przedmiotów, szkieł kontaktowych.	
7.	Aklimatyzacja skóry probanta do badania.	
8.	Demakijaż obszaru zabiegowego za pomocą płátka zwilżonego 0,9% NaCl.	
9.	Diagnoza obszaru zabiegowego (twarzy).	
10.	Wykonanie fotografii przed zabiegiem.	
11.	Założenie elektrody biernej z wilgotnym podkładem na łopatce.	
12.	Przyłożenie wcześniej przygotowanej sondy prostopadle do powierzchni skóry.	
13.	Przeprowadzenie wstępnego (t0) badania korneometrycznego, tewametrycznego.	
14.	Odłożenie sondy. Umycie dłoni i nałożenie rękawiczek jednorazowych (izolacja).	
15.	Rozprowadzenie odpowiedniej ilości żelu sprzęgającego o temp. 20°C	
16.	Poinformowanie probanta o odczuciach podczas zabiegu.	
17.	Wybranie odpowiedniej głowicy zabiegowej i jej dezynfekcja.	
18.	Włączenie urządzenia i rozpoczęcie dawkowania, wykonywanie płynnych ruchów.	
19.	Opracowanie podbródka, bruzdy nosowo-wargowej, żuchwy, policzków, okolic oczu.	
20.	Ustawienie energii w pozycji „0”.	
21.	Ściągnięcie nadmiaru żelu kontaktowego.	
22.	Kontrolowanie odczyn w polu zabiegowym, ściągnięcie elektrody biernej.	
23.	Ustabilizowanie temperatury skóry.	
24.	Ponowne przeprowadzenie badania tewametrycznego, korneometrycznego (t1).	
25.	Wykonanie fotografii po zabiegu,	
26.	Przekazanie probantowi zaleceń po badaniu.	

4b. Protokół zabiegowy radiofrekwencji bipolarnej

PROTOKÓŁ ZABIEGOWY RADIOFREKWENCJI BIPOLARNEJ		
1.	Przygotowanie stanowiska pod względem bezpieczeństwa podczas zabiegu i badań.	
2.	Przygotowanie niezbędnych, preparatów i przyborów.	
3.	Przeprowadzenie szczegółowego wywiadu kosmetologicznego.	
4.	Stwierdzenie braku ograniczeń do badania, wypełnienie karty badania.	
5.	Wypełnienie i podpisanie formularza świadomej zgody na udział w badaniu.	
6.	Ściągnięcie przez probanta metalowych przedmiotów, szkieł kontaktowych.	
7.	Aklimatyzacja skóry probanta do badania.	
8.	Demakijaż obszaru zabiegowego za pomocą płátka zwilżonego 0,9% NaCl.	
9.	Diagnoza obszaru zabiegowego (twarzy).	
10.	Wykonanie fotografii przed zabiegiem.	
11.	Wyłączenie funkcji IPL.	
12.	Przyłożenie wcześniej przygotowanej sondy prostopadle do powierzchni skóry.	
13.	Przeprowadzenie wstępnego (t0) badania korneometrycznego, tewametrycznego.	
14.	Odłożenie sondy. Umycie dłoni i nałożenie rękawiczek jednorazowych (izolacja).	
15.	Rozprowadzenie odpowiedniej ilości żelu sprzęgającego o temp. 20°C.	
16.	Poinformowanie probanta o odczuciach podczas zabiegu.	
17.	Wybranie odpowiedniej głowicy zabiegowej i jej dezynfekcja.	
18.	Włączenie urządzenia i rozpoczęcie dawkowania, wykonywanie płynnych ruchów.	
19.	Opracowanie podbródka, bruzdy nosowo-wargowej, żuchwy, policzków, okolic oczu.	
20.	Ustawienie energii w pozycji „0”.	
21.	Ściągnięcie nadmiaru żelu kontaktowego.	
22.	Kontrolowanie odczyn w polu zabiegowym.	
23.	Ustabilizowanie temperatury skóry.	
24.	Ponowne prowadzenie badania tewametrycznego, korneometrycznego (t1).	
25.	Wykonanie fotografii po zabiegu.	
26.	Przekazanie probantowi zaleceń po badaniu.	

Załącznik nr 5

ANKIETA AUTORSKA

Celem ankiety jest zebranie opinii na temat efektów nawilżenia i remodelingu skóry twarzy po zabiegu radiofrekwencji. Poznanie Pań opinii pozwoli mi na opracowanie wyników badania naukowego będącego elementem rozprawy doktorskiej. Ankieta jest w pełni anonimowa.

1. PŁEĆ

- kobieta
- mężczyzna

2. WIEK w latach

- 20-29
- 30-39
- 40-49
- 50-59
- 60-69

3. MIEJSCE ZAMIESZKANIA

- wieś
- miasto poniżej 50 tyś. mieszkańców
- miasto od 51 tyś. do 100 tyś. mieszkańców
- miasto od 101 do 200 tyś. mieszkańców
- miasto ponad 200 tyś. mieszkańców

4. WYKSZTAŁCENIE

- podstawowe
- zawodowe
- średnie
- niepełne wyższe
- wyższe

5. AKTYWNOŚĆ ZAWODOWA

- emerytka
- rencistka
- uczennica
- bezrobotna
- właściciel firmy
- pracownik firmy

6. SKĄD UZYSKUJE PANI INFORMACJE NA TEMAT ZABIEGÓW KOSMETOLOGICZNYCH?

- Internet
- radio
- telewizja
- znajomi
- pisma specjalistyczne
- reklama

7. TYP SKÓRY WEDŁUG KLASYFIKACJI FITZPATRICK'A

- I (bardzo jasna, piegi włosy blond, rude, rumień po krótkim pobycie na słońcu)
- II (biała skóra, łatwo ulegająca poparzeniom, minimalnie i trudno opalająca się)
- III (ciemniejsza biała skóra, opalająca się, po początkowym poparzeniu)
- IV (jasnobrązowa skóra, ulegająca minimalnym poparzeniom, łatwo opalająca się)
- V (brązowa skóra, rzadko ulegająca poparzeniom, łatwo i mocno opalająca się)
- VI (ciemno brązowa, czarna, nigdy nie ulega oparzeniom, stała, głęboka pigmentacja)

8. OKOLICA DOTKNIĘTA NAJWIĘKSZYM PRZESUSZENIEM

- twarz
 - czoło
 - nos
 - policzek lewy i lewy
 - broda

9. PRZYCZYNA PRZESUSZENIA SKÓRY

- wrodzona
- nabyta
 - promieniowanie UV
 - kosmetyki
 - zmiany hormonalne (ciąża, menopauza, preparaty antykoncepcyjne)
 - inne zaburzenia endokrynologiczne
 - leki
 - zmiany zapalne skóry

10. CZAS TRWANIA PRZESUSZENIA SKÓRY

- od urodzenia
- od miesiąca
- od 2 miesięcy
- od 6 miesięcy
- od roku
- od ...lat
- od ...roku życia

11. CZY ULEGŁA PANI KIEDYŚ POPARZENIU SŁONECZNEMU?

- tak
- nie

12. CZY STOSUJE PANI OCHRONĘ PRZECIWSŁONECZNĄ?

- tak
- nie

13. JAK CZĘSTO PANI JĄ STOSUJE?

- codziennie
- wyłącznie podczas opalania
- rzadko
- w ogóle

14. W JAKI SPOSÓB PANI RADZI SOBIE Z PROBLEMEM PRZESUSZONEJ SKÓRY?

- nic z tym nie robię
- konsultacje z kosmetologiem
- inne, jakie...

15. CZY KORZYSTA PANI Z ZABIEGÓW NAWILŻAJĄCYCH, UELASTYCZNIAJĄCYCH?

- tak
- nie

16. JAKIE ZABIEGI WYKONYWANE BYŁY W TYM CELU?

- radiofrekwencja
- eksfoliacja
- sonoforeza
- oksybrazia
- mezoterapia igłowa
- inne, jakie...

17. CZY STOSOWAŁA PANI INNE KOSMETYKI NAWILŻAJĄCE W TRAKCIE BADANIA?

- tak, jakie...
- nie

18. CZY ZAOBSEROWAŁA PANI EFEKT UELASTYCZNIENIA SKÓRY PO RADIOFREKWENCJI

- 0 - pogorszenie
- 1 - brak poprawy
- 2 - minimalna poprawa
- 3 - zdecydowana poprawa

19. CZY ZAOBSEROWAŁA PANI EFEKT NAWILŻENIA SKÓRY PO RADIOFREKWENCJI

- 0 - pogorszenie
- 1 - brak poprawy
- 2 - minimalna poprawa
- 3 - zdecydowana poprawa

20. PO JAKIM CZASIE BYŁY ZAUWAŻALNE EFEKTY TERAPII?

- bezpośrednio po zabiegu
- po 2 tygodniach od zabiegu
- po miesiącu od zabiegu
- po kilku miesiącach stosowania, ilu ? ...
- nie było zauważalnych efektów

21. SUBIEKTYWNA OCENA NAWILŻENIA PO RADIOFREKWENCJI

- 5 - bardzo dobrze
- 4 - dobrze
- 3 - przeciętnie
- 2- niezadowolająco
- 1- źle

22. SUBIEKTYWNA OCENA UELASTYCZNIENIA PO RADIOFREKWENCJI

- 5 - bardzo dobrze
- 4 - dobrze
- 3 - przeciętnie
- 2- niezadowolająco
- 1- źle

23. SUBIEKTYWNA OCENA EFEKTY REMODELINGU PO RADIOFREKWENCJI

- 5 - bardzo dobrze
- 4 - dobrze
- 3 - przeciętnie
- 2- niezadowolająco
- 1- źle

24. W JAKICH MIEJSCACH TWARZY OBSERWOWANE BYŁY NAJLEPSZE EFEKTY

- policzki
- powieka górna
- powieka dolna
- bruzda nosowo- wargowa
- „chomiki”
- zmarszczki marionetki

25. CZY PODCZAS LUB PO ZABIEGU POJAWIŁY SIĘ PODRAŻNIENIA SKÓRY TYPU:

- rumień
- obrzęk
- wysypka
- poparzenie
- inne...
- brak