

UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU
WYDZIAŁ MEDYCZNY
ZAKŁAD BIOFIZYKI, KATEDRA BIOFIZYKI

mgr Karolina Marcinkowska

**OCENA SKUTECZNOŚCI SYNERGII RADIOFREKWENCJI
MONOPOLARNEJ I ELEKTROPORACJI
W TERAPII ANTI - AGING NA PODSTAWIE WYBRANYCH
PARAMETRÓW BIOFIZYCZNYCH SKÓRY TWARZY**

**EVALUATION OF THE SYNERGY EFFECTIVENESS OF MONOPOLAR
RADIOFREQUENCY AND ELECTROPORATION
IN ANTI - AGING THERAPY BASED ON SELECTED BIOPHYSICAL
PARAMETERS OF FACIAL SKIN**

Rozprawa doktorska
Promotor: prof. zw. dr hab. n. med. Leszek Kubisz

Poznań 2021

*Serdecznie dziękuję
Mojemu Promotorowi
Panu prof. zw. dr hab. n. med. Leszkowi Kubiszowi
za opiekę naukową, okazaną wyrozumiałość,
życzliwość oraz nieocenioną pomoc i cenne wskazówki
w trakcie realizacji i pisania niniejszej pracy.*

- Karolina Marcinkowska

Pragnę serdecznie podziękować moim Najbliższym.

*Dziękuję za to, że każdego dnia jesteście dla mnie
ogromnym wsparciem.*

*Dziękuję za miłość, cierpliwość, wszelką pomoc i dobre
słowo.*

To Wam pragnę zadedykować swoją

Pracę Doktorską.

WYKAZ SKRÓTÓW

AGE ang. advanced glycation end products - zaawansowane produkty finalne glikacji

AMP ang. antimicrobial peptides - peptydy przeciwdrobnoustrojowe

AP - 1 ang. activator protein-1 - aktywator proteiny - 1

ATP - adenosynotrójfosforan

DOPA - 3,4-dihydroksyalanina

ECM ang. extracellular matrix - macierz zewnątrzkomórkowa

EGF ang. epidermal growth factor - czynnik wzrostu naskórka

EGF ang. epidermal growth factor - czynnik wzrostu naskórka

EGFR - receptor EGF

Er:Yag ang. erbium-doped yttrium aluminium garnet - erbowo-yagowy

FGF ang. fibroblast growth factor - czynnik wzrostu fibroblastów

FGF ang. fibroblast growth factor - czynnik wzrostu fibroblastów

HGF ang. hepatocyte growth factor - czynnik wzrostu hepatocytów

HIFU ang. high intensity focused ultrasound - skupiona wiązka fal ultradźwiękowych o dużym natężeniu

HSP ang. heat shock proteins - białka szoku cieplnego

IGF - 1 ang. insulin - like growth factor - 1 - insulinopodobny czynnik wzrostu - 1

IL ang. interleukin - interleukina

IPL ang. intensive pulse light - intensywne światło pulsacyjne

KGF ang. keratinocyte growth factor - czynnik wzrostu keratynocytów

KGF ang. keratinocyte growth factor - czynnik wzrostu keratynocytów

KTP - potasowo-tytanowo-fosforanowy

MMP ang. matrix metalloproteinases - metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej

Nd:Yag ang. neodymium-doped yttrium aluminium garnet - neodymowo-yagowy

NF - κ B ang. nuclear factor kappa B - jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B

NMF ang. natural moisturizing factor - naturalny czynnik nawilżający

PDGF ang. platelet-derived growth factor - płytkowy czynnik wzrostu

RF ang. radiofrequency - radiofrekwencja

ROS ang. reactive oxygen species - reaktywne formy tlenu

SMAS ang. superficial musculo aponeurotic system - powierzchowny układ mięśniowo - powięziowy

TEWL ang. transepidermal water loss - transepidermalna utrata wody

TGF - α ang. transforming growth factor alfa - transformujący czynnika wzrostu alfa

TGF - beta ang. transforming growth factor beta - transformujący czynnika wzrostu beta
TIMP ang. tissue inhibitors of metalloproteinase - tkankowy inhibitor metaloproteazy
TJ ang. epidermal tight junction - szczelne połączenia naskórkowe
TNF - alfa ang. tumor necrosis factor alfa - czynnik martwicy nowotworów alfa
VEGF ang. vascular endothelial growth factor - śródbłonkowy czynnik wzrostu
ZO - 1 ang. zonula occludens-1 - zonulina-1

SPIS TREŚCI

WSTĘP	8
1. ANATOMIA I FIZJOLOGIA SKÓRY	9
1.1. NASKÓREK	10
1.1.1. WARSTWY NASKÓRKA	10
1.1.2. RÓŻNICOWANIE KERATYNOCYTÓW - CYKL KOMÓRKOWY	11
1.1.3. ROLA WARSTWY ROGOWEJ	11
1.1.4. KOMÓRKI NASKÓRKA	12
1.1.5. CZYNNIKI WZROSTU NASKÓRKA	13
1.1.6. PEPTYDY PRZECIWDROBNOUSTROJOWE NASKÓRKA	14
1.1.7. NATURALNY CZYNNIK NAWILŻAJĄCY NMF	15
1.1.8. MECHANIZM PRZEZNASKÓRKOWEJ KINETYKI WODY	16
1.2. GRANICA SKÓRNO - NASKÓRKOWA, STREFA BŁONY PODSTAWNEJ	16
1.3. SKÓRA WŁAŚCIWA	17
1.3.1. WŁÓKNA KOLAGENOWE. TYPY KOLAGENU W SKÓRZE WŁAŚCIWEJ	17
1.3.2. WŁÓKNA ELASTYNOWE	19
1.3.3. FIBROBLASTY - KOMÓRKI SKÓRY WŁAŚCIWEJ	20
1.4. TKANKA PODSKÓRNA	20
1.5. UNACZYNIENIE SKÓRY	22
1.6. UNERWIENIE SKÓRY	22
2. ASPEKTY STARZENIA SIĘ SKÓRY	23
2.1. ZMIANY HISTOLOGICZNE W PRZEBIEGU STARZENIA	24
2.1.1. FIBROBLASTY - MECHANICZNA INTERAKCJA Z MATRYCĄ KOLAGENOWĄ	25
2.2. STARZENIE ENDOGENNE – WEWNĄTRZPOCHODNE	25
2.2.1. CHRONOLOGICZNE, ZWIĄZANE Z WIEKIEM	25
2.2.2. HORMONALNE	27
2.3. STARZENIE EGZOGENNE – ZEWNĄTRZPOCHODNE	28
2.3.1. FOTOSTARZENIE	28
2.3.2. STARZENIE ZWIĄZANE Z DYMEM PAPIEROSOWYM	30
2.4. MIOSTARZENIE - STARZENIE MIMICZNE	30
2.5. ZMIANY STARZENIOWE W OBJĘTOŚCI MIĘŚNI TWARZY ORAZ BUDOWIE I MASIE KOSTNEJ TWARZOCZASZKI	30
2.5.1. PROCES STARZENIA MIĘŚNI	30
2.5.2. PROCES STARZENIA STRUKTURY KOSTNEJ	31
3. KLASYFIKACJA ZABIEGÓW PRZECIWSTARZENIOWYCH W OPARCIU O SPECYFIKĘ SKÓRY TWARZY	32
3.1. FAKTURA SKÓRY	32
3.2. GĘSTOŚĆ SKÓRY	33
3.3. LIFTING SKÓRY	34
3.4. KOLORYT SKÓRY	35
3.4.1. ZMIANY NACZYNIOWE	35
3.4.2. PRZEBARWIENIA	36
4. FALE WYSOKIEJ CZĘSTOTLIWOŚCI RADIOWEJ W PROCESACH STARZENIA	37

4.1.	EFEKTY ODDZIAŁYWANIA WYSOKIEJ TEMPERATURY - BIAŁKA SZOKU TERMICZNEGO	37
4.2.	PODSTAWY FIZYCZNE ZABIEGU RADIOFREKWENCJI	39
4.3.	BIOFIZYKA TERMICZNEJ PRZEBUDOWY KOLAGENU	40
4.4.	HISTOLOGICZNE ZMIANY NASKÓRKA, SKÓRY WŁAŚCIWEJ I TKANKI PODSKÓRNEJ INDUKOWANE RADIOFREK - WENCJĄ	43
4.5.	KLASYFIKACJA RADIOFREKWENCJI	45
4.5.1.	RADIOFREKWENCJA MONOPOLARNA	45
4.5.2.	RADIOFREKWENCJA BIPOLARNA	45
4.5.3.	RADIOFREKWENCJA TRIPOLARNA/MULTIPOLARNA	46
4.5.4.	RADIOFREKWENCJA UNIPOLARNA	46
4.5.5.	RADIOFREKWENCJA MIKROIGŁOWA	46
4.6.	KLINICZNE PRZEZNACZENIE DIATERMII	47
4.6.1.	GĘSTOŚĆ, NAPIĘCIE, FAKTURA SKÓRY, ZMARSZCZKI	47
4.6.2.	RUMIEŃ, PRZEBARWIENIA	48
4.6.3.	TRĄDZIK POSPOLITY, ROZSZERZONE MIESZKI WŁOSOWE, BLIZNY POZAPALNE	49
4.6.4.	TKANKA PODSKÓRNA	50
5.	ELEKTROPORACJA	51
5.1.	WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE BARIERY SKÓRNEJ W PROCESIE ELEKTROPORACJI	51
5.2.	EFEKTY BIOLOGICZNE INDUKOWANE ELEKTROPORACJĄ, ZNACZENIE TERAPEUTYCZNE	52
5.3.	KLINICZNE ZASTOSOWANIE ELEKTROPORACJI	54
5.3.1.	ELEKTROCHEMIOTERAPIA	55
5.3.2.	TERAPIA GENOWA	55
5.3.3.	SKÓRNE I PRZEZSKÓRNE DOSTARCZANIE MAKROMOLEKUŁ ISTOTNYCH FARMACEUTYCZNE	56
5.3.4.	ZASTOSOWANIE ELEKTROPORACJI W KOSMETOLOGII	57
6.	INSTRUMENTALNE METODY POMIARU WŁAŚCIWOŚCI BIOFIZYCZNYCH SKÓRY	58
6.1.	KORNEOMETRIA	58
6.2.	TEWAMETRIA	59
6.3.	KUTOMETRIA	60
6.4.	PEHAMETRIA	61
6.5.	SEBUMETRIA	62
6.6.	MEKSAMETRIA	63
6.7.	PROFILOMETRIA	64
7.	ZAŁOŻENIA I CEL PRACY	65
7.1.	ZAŁOŻENIA PRACY	65
7.2.	CEL PRACY	66
8.	METODY I MATERIAŁY BADAWCZE	67
8.1.	OPIS GRUPY BADANEJ	67
8.2.	METODY BADAWCZE	68
8.2.1.	METODYKA ZABIEGOWA	68
8.2.2.	METODYKA POMIAROWA	70
8.2.2.1.	KUTOMETRIA	71
8.2.2.2.	KORNEOMETRIA	72
8.2.2.3.	TEWAMETRIA	73
8.2.3.	ANKIETA AUTORSKA	74

8.2.4.	METODY ANALIZY STATYSTYCZNEJ.....	75
9.	WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE	76
9.1.	ANALIZA OPISOWA	76
9.1.1.	ANALIZA OPISOWA	76
9.1.2.	OCENA KLINICZNA.....	78
9.2.	WYNIKI BADAŃ	84
9.2.1.	ANALIZA STATYSTYCZNA WYNIKÓW	84
9.2.2.	SUBIEKTYWNA OCENA SKUTECZNOŚCI TERAPII	84
9.2.3.	OBIEKTYWNA OCENA SKUTECZNOŚCI TERAPII	90
9.2.3.1.	WYNIKI BADAŃ - KORNEOMETRIA	90
9.2.3.2.	WYNIKI BADAŃ - KUTOMETRIA.....	94
9.2.3.3.	WYNIKI BADAŃ - TEWAMETRIA.....	98
9.2.4.	ANALIZA WYNIKÓW POD WZGLĘDEM CECH SOCJODEMOGRAFICZNYCH I KLINICZNYCH	103
9.2.4.1.	ANALIZA WYNIKÓW BADAŃ OBIEKTYWNYCH WZGLĘDEM FOTOTYPU SKÓRY	103
9.2.4.2.	PORÓWNANIE WYNIKÓW BADAŃ OBIEKTYWNYCH Z UWZGLĘDNIENIEM WIEKU BADANYCH	110
9.2.4.3.	ANALIZA WYNIKÓW BADAŃ OBIEKTYWNYCH Z UWZGLĘDNIENIEM PRZYCZYNY PRZESUSZANIA SKÓRY	112
9.2.4.4.	PORÓWNANIE WYNIKÓW BADAŃ OBIEKTYWNYCH Z UWZGLĘDNIENIEM OKRESU WYSTĘPOWANIA PRZESUSZENIA SKÓRY	113
9.2.4.5.	PORÓWNANIE WYNIKÓW DOTYCZĄCYCH BADAŃ OBIEKTYWNYCH ZE WZGLĘDU NA WYSTĘPOWANIE MENOPAUZY	114
10.	DYSKUSJA	116
11.	WNIOSKI.....	127
12.	STRESZCZENIE	128
13.	SUMMARY	130
14.	PIŚMIENNICTWO	132
15.	SPIS RYCIN.....	146
16.	SPIS TABEL	148
17.	ZAŁĄCZNIKI	149

WSTĘP

Obecnie możliwości stymulacji skóry są bardzo wszechstronne. Istnieje wiele metod wykorzystujących potencjał biofizyczny tkanek w oparciu o zaawansowane i innowacyjne technologie aparaturowe w postaci laseroterapii, światła polichromatycznego, technologii zogniskowanych ultradźwięków (*high intensity focused ultrasound* - HIFU), elektroporacji, plazmy azotowej, fali uderzeniowej czy radiofrekwencji frakcyjnej, monopolarnej, multipolarnej, tripolarnej i bipolarnej.

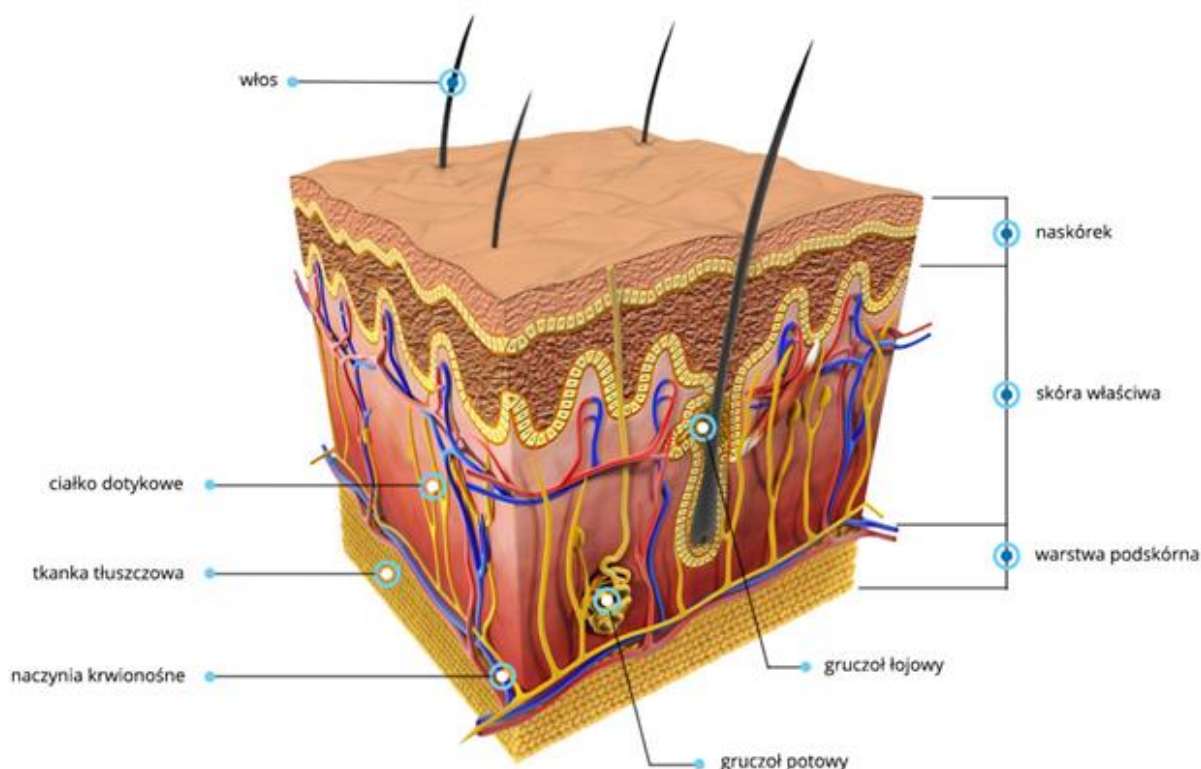
Występuje ścisła zależność w zakresie współczesnej biofizyki i kosmetologii, stanowiących niewątpliwie efekt synergiczny w zakresie oceny wpływu i działania danego urządzenia na skórę. Badania kliniczne coraz częściej bazują na metodach biofizycznych służących do oceny nawilżenia skóry, jej elastyczności, natłuszczenia, gładkości, zabarwienia, grubości czy odczynu i powierzchni. W związku z tak dużą wszechstronnością biofizyczną można monitorować i oceniać proces uszkodzenia skóry, wykrywać jej nieprawidłowości, badać i kontrolować efektywność działania substancji aktywnych zawartych w preparatach kosmetycznych na tkankę. Instrumentalne badanie skóry umożliwia również pomiar i ocenę oddziaływania na skórę specjalistycznych aparatów, co pozwala na ocenę skuteczności protokołów zabiegowych w nich zawartych.

Jedną z wymienionych metod stymulacji skóry w zakresie jej odmładzania jest terapia częstotliwościami fal radiowych oraz terapia krótkimi impulsami elektrycznymi w postaci elektroporacji. Temat synergii radiofrekwencji i elektroporacji, szczególnie w aspekcie ich wzajemnego przenikania w obszarze skóry twarzy, stanowi innowacyjne podejście do zabiegów odmładzania. Ponadto, warto podkreślić, iż wybór radiofrekwencji jako metody stymulacji jest bardziej bezpieczną i przewidywalną formą pracy ze skórą, aniżeli bardzo często wykorzystywane do tego celu światło laserowe czy intensywne światło pulsacyjne. Wynika to z faktu, iż prąd o częstotliwości radiowej wchodzi w interakcję jedynie z wodą. Natomiast naświetlanie wykazuje powinowactwo do różnej grupy chromoforów, jak: melanina, oksyhemoglobina, woda czy porfiryny. W związku z powyższym energia termiczna światła może konkurencyjnie być absorbowana przez chromofory, które nie uczestniczą w procesie termicznej obróbki tkanki, stwarzając ryzyko poparzeń, uszkodzeń naczyń i przebarwień. Takich niepożądanych reakcji radiofrekwencja monopolarna z elektroporacją nie wygeneruje.

1. ANATOMIA I FIZJOLOGIA SKÓRY

Skóra jest tworem heterogennym, tworzącym zewnętrzną powłokę ciała, co stanowi największy organ człowieka o wadze ok. 4 kg i łącznej powierzchni ok. 2m². Składa się z trzech nałożonych względem siebie warstw: naskórka, skóry właściwej i tkanki podskórnej. Ze skórą związane są także przydatki skóry, jak gruczoły łojowe i potowe, paznokcie czy włosy (ryc. 1) [1, 2, 3].

Skóra stanowi również zabezpieczenie narządów wewnętrznych przed uszkodzeniami mechanicznymi, jak i czynnikami środowiska zewnętrznego, zapewniając jednocześnie ochronę organizmu przed nadmiernym wpływem otoczenia. To także bardzo aktywny metabolicznie narząd pełniący rolę immunologiczną, termoregulacyjną czy utrzymującą równowagę wodnoelektrolitową organizmu. Zajmuje się regulacją poziomu wzajemnej integracji w warunkach fizjologicznych, utrzymując równowagę między ustrojem a otoczeniem. Zapewnia mocną i elastyczną pokrywę, wytrzymującą zarówno rozciąganie, jak i ucisk [1, 3, 4].



Ryc. 1. Budowa skóry [opracowanie własne].

1.1. NASKÓREK

Naskórek to pochodzenia ektodermalnego nabłonek wielowarstwowy płaski rogowaciejący. Składa się głównie z komórek żywych, zwanych keratynocytami, które w procesie keratynizacji ulegają modyfikacji, tworząc cztery wyraźnie zaznaczone warstwy, każdą o odmiennej specyfice. Komórki te poprzez utratę jądra i ziarnistości, przekształcają się w postać martwą - korneocyty [3, 5].

1.1.1. WARSTWY NASKÓRKA

Warstwa podstawna (rozrodcza)

Najniżej położoną warstwę komórek naskórka o wydłużonych, silnie zasadochłonnych jądrach stanowi warstwa podstawna, zbudowana z pojedynczego szeregu komórek o walcowatym kształcie. Dzielące się na przestrzeni tej warstwy komórki macierzyste umożliwiają ciągłą odbudowę naskórka poprzez odnawianie populacji komórek [6, 7, 8]. Około 50% z nich jest w trakcie mitozy i przesuwa się w kierunku powierzchni, ulegając stopniowemu różnicowaniu się na komórki zrogowaciałe, które podlegają złuszczeniu. Średni czas takiej migracji wynosi około miesiąc [6, 9, 10, 11].

Warstwa koleczysta

Warstwa koleczysta składa się z kilku rzędów wielobocznych komórek, ulegających spłaszczeniu w kierunku powierzchni skóry, połączonych ze sobą za pomocą desmosomów [3, 6]. Ich cytoplazma zawiera tonofilamenty - włókna zbudowane z białek, które grupują się tworząc pakiety w postaci tonofibryli [5]. Pomiedzy komórkami występują przestrzenie wypełnione mukopolisacharydowobiałkową substancją - desmogleiną, która stanowi cement w zakresie przylegających do siebie desmosomów [3, 5, 11, 12].

Warstwa ziarnista

Keratynocyty warstwy ziarnistej stanowią najwyżej zlokalizowane, żywe komórki naskórka. To w tej warstwie zachodzi właściwy proces keratynizacji. Warstwę tę tworzy kilka szeregów komórek o wrzecionowatym kształcie i spłaszczonych jądrach, zawierających ziarnistości keratohialiny o właściwościach zasadochłonnych. Stanowią one ważny produkt pośredni w syntezie białka keratynowego, zawierając profilagrynę, prekursor filagryny. Białko

filagryna wiąże w sposób krzyżowy filamenty keratynowe, wzmacniając przy tym ich wytrzymałość i strukturę [3, 5, 6, 7].

Warstwa rogowa

Najbardziej zewnętrzną warstwą naskórka jest warstwa rogowa o przeciętnej grubości 15 - 20 rzędów pozbawionych jąder, spłaszczonych komórek [5, 7]. W dolnych warstwach komórki te przylegają względem siebie, ich ułożenie zmienia się natomiast na powierzchni, ponieważ są rozmieszczone luźno, ulegając ciągłemu procesowi złuszczenia. Pomiedzy komórkami warstwy rogowej występują duże ilości lipidów, tworząc tzw. płaszcz lipidowy, który pełni funkcję bariery chroniącej organizm przed czynnikami zewnętrznymi, jak i utratą płynów [1, 5, 11, 13].

1.1.2. RÓŻNICOWANIE KERATYNOCYTÓW - CYKL KOMÓRKOWY

Zjawisko keratynizacji ma swój początek w warstwie podstawnej naskórka, gdzie następują podziały komórkowe, po czym komórki w sposób ciągły przemieszczają się na powierzchnię skóry, ulegając transformacji do złuszczonej, martwych komórek [5, 14]. Okres przejścia keratynocytu z warstwy podstawnej do rogowej, co określane jest mianem *turnover time*, został wyznaczony na podstawie badań autoradiograficznych i wynosi 26 - 28 dni. Na proces ten składają się dwa równoczesne zjawiska: różnicowanie się komórek oraz ich pionowa migracja. Połowa tego okresu przypada na warstwę Malpighiego (warstwę podstawną i kolczystą), druga zaś obejmuje warstwę rogową [3, 6, 8, 15].

1.1.3. ROLA WARSTWY ROGOWEJ

Warstwa rogowa, mimo iż bardzo cienka (10 - 20 μm) względem całkowitej grubości skóry, to stanowiąca jej główny element ochrony. Jest ona także obszarem gromadzenia się substancji tłuszczowych, decydującym o procesie nawilżania skóry i pełniącym kluczową funkcję estetyczną. Dzięki odpowiedniemu składowi chemicznemu oraz budowie stanowi niemalże nieprzenikalną i bardzo odporną barierę [5, 9]. Znajdujące się w tej części naskórka korneocyty tworzą warstwy, nakładając się względem siebie na wzór dachówki. To spłaszczone komórki, niezawierające organelli, zbudowane niemal wyłącznie z keratyny - bardzo odpornego białka [1, 7, 9]. Keratyna wiążąc wodę, zapewnia warstwie rogowej elastyczność, choć względem innych uwodnionych komórek organizmu w korneocytach wymiar wody jest

symboliczny i stanowi średnio 13% zawartości komórki. Lipidowe spoiwo międzykomórkowe, zawierające przede wszystkim ceramidy, cholesterol oraz wielonienasycone kwasy tłuszczowe, to niezwykle stabilny łącznik tych komórek. Korneodesmosomy, to z kolei wiązania białkowe zapewniające przyleganie korneocytów [5, 6, 9,].

Wytrzymałość warstwy rogowej, stanowiącej efekt bariery, uniemożliwia przenikanie przez skórę substancji o charakterze zewnątrzpochodnym, jak również ogranicza dyfuzję wody ze skóry właściwej. Dlatego rolą warstwy rogowej jest także nawadnianie skóry [3, 5].

1.1.4. KOMÓRKI NASKÓRKA

Naskórek, oprócz keratynocytów i korneocytów, wyposażony jest w melanocyty, komórki Langerhansa oraz komórki Merkla [3, 14].

W warstwie podstawnej zlokalizowane są, wywodzące się z grzebienia nerwowego, komórki dendrytyczne - melanocyty. Wprowadzają one pomiędzy keratynosomy swoje organella w formie wypustek, przekazując im ziarnistości, tzw. melanosomy - to w nich dokonuje się proces syntezy melaniny. Typowy melanocyt jest komórką wyposażoną w dwie lub więcej wypustek, zawierających zmienną liczbę melanosomów [6, 11, 16, 17]. Co więcej, jeden melanocyt przypada na około 36 keratynocytów. Liczba komórek pigmentacyjnych uwarunkowana jest genetycznie, a ich odbudowa jest ograniczona, rozmnażają się stosunkowo wolno. Stanowią one około 13% populacji komórek naskórka. Melanina powstaje z tyrozyny, która poddana działaniu enzymu - tyrozinazy i w obecności koenzymu zawierającego jony wapnia, przekształca się w DOPA (3,4 - dihydroksyalanina), a następnie dopachinon, który jest prekursorem melaniny - eumelaniny/feomelaniny [6, 14, 18, 19].

Kolejną grupę komórek zlokalizowanych w naskórku stanowią komórki Langerhansa, wywodzące się ze szpiku kostnego komórki dendrytyczne [5, 18]. Ich rolą jest prezentacja antygenów limfocytom T. Posiadają receptory frakcji dopełniacza C3, receptory dla fragmentu Fc gamma oraz są w posiadaniu antygenów klasy II - HLADR oraz antygeny T6 [3, 19, 20]. Uruchamiając odpowiedź immunologiczną typu komórkowego, zapewniają ochronę odpornościową skóry - nadwrażliwość opóźniona (HSR) lub alergię kontaktową typu IV. Obejmują one 2 - 4% wszystkich komórek naskórka [5, 20].

Najmniej liczną grupę komórek naskórkowych, gdyż zaledwie 1%, reprezentują komórki Merkla. Są to komórki neuroendokrynne i nabłonkowe, funkcjonujące jako receptory czuciowe i występujące w warstwie podstawnej. Ich cytoplazmatyczne wypustki umożliwiają

przenikanie między keratynocytami [8, 18, 20]. Wytwarzają one neuromediatory i hormony, a także zawierają antygeny desmosomów, jak również cytokeratyny. Zapewniają rejestrację vibracyjnych bodźców, przekazując je do zakończeń nerwowych, z którymi się kontaktują. Z uwagi na charakterystyczne rozszerzenie zakończeń nerwów czasem definiowane są jako dyski Merkla. Największa ich lokalizacja dotyczy opuszek palców, powierzchni dłoni, okolicy gruczołów sutkowych oraz czerwieni wargowej czy cebulek włosów [5, 9, 21].

1.1.5. CZYNNIKI WZROSTU NASKÓRKA

Wśród czynników wzrostu regulujących proliferację naskórka można wyodrębnić dwie grupy: namnażające oraz różnicujące. Pierwsza grupa powoduje zwiększenie syntezy DNA, co w rezultacie przyspiesza proliferację komórek. Druga zaś hamuje produkcję DNA oraz ogranicza wzrost, co umożliwia różnicowanie keratynocytów [7, 9, 20].

Czynnik wzrostu naskórka (*epidermal growth factor* - EGF) stanowi jedną z chemokin o właściwościach stymulujących i regulujących proliferację komórek. Poprzez połączenie z receptorem EGF (EGFR) na błonie komórek podstawnych i ponadpodstawnych, pobudzając przy tym aktywność kinazy tyrozynowej, zwiększa komórkową dynamikę glikolizy, syntezę białek, różnicowanie i namnażanie. Jego aktywność jest regulowana w sposób częściowy obecnością jodu [20, 22]. Czynniki EGF pełni bardzo ważną rolę w procesie gojenia tkanek, odbudowy naskórka oraz tworzenia tkanki ziarninowej. Jego terapeutyczne działanie opiera się na stymulowaniu migracji oraz proliferacji komórek naskórka, zwiększając obrót komórkowy skóry, jak również wpływaniu na aktywność fibroblastów, uczestniczących w regeneracji uszkodzonych tkanek [20, 22, 23].

Czynnik wzrostu keratynocytów (*keratinocyte growth factor* - KGF) - należy do rodziny czynników wzrostu fibroblastów (*fibroblast growth factor* - FGF), którą tworzy 22 polipeptydów wiążących się z receptorami transbłonowymi o aktywności kinazy tyrozynowej. Charakterystyczną ich cechą stanowi oddziaływanie z proteoglikanami oraz heparyną - w tym siarczanem heparanu, które wykazują działanie stabilizujące wobec tych białek [9, 20, 22]. Działają mitogennie, hormonalnie i regulująco, pełniąc także funkcję ochronną w warunkach stresu komórkowego. Z kinazą tyrozynową na powierzchni naskórka będą oddziaływać KGF - 1 (zwany także FGF - 7) oraz KGF - 2 (FGF - 10), nasilając namnażanie, migrację i różnicowanie keratynocytów, szczególnie w wyniku ich uszkodzenia. To one odgrywają rolę w fazie epitelializacji przy gojeniu ran. Dowiedziono również, iż KGF zwiększa syntezę kwasu hialuronowego w keratynocytach [6, 22, 23].

Kolejne istotne czynniki wzrostu regulujące pracę naskórka, to polipeptydowe transformujące czynniki wzrostu, występujące w dwóch postaciach: transformującego czynnika wzrostu alfa (*transforming growth factor alfa* – TGF - alfa) i transformującego czynnika wzrostu beta (*transforming growth factor beta* – TGF - beta) [7, 20]. Różnią się względem siebie zarówno konfiguracją, jak i funkcją. TGF - alfa występuje jako czynnik proliferacyjny zbliżony w swojej funkcji do EGF, aktywowany poprzez stymulację odpowiedzi kinazy tyrozynowej. TGF - beta występujący w trzech podtypach (1 - 3), stanowi czynnik różnicujący, wykazując zarówno stymulujący, jak i hamujący wpływ na keratynocyty i uczestniczy w utrzymaniu stanu nieodróżnicowania komórek macierzystych naskórka. Te trzy biorące udział w procesie gojenia białka są ligandami receptorów o aktywności kinazy serynowo - treoninowej. Obecność estrów forbolu, wapnia oraz samego TGF - beta zwiększa poziom naskórkowego TGF - beta i prowadzi do różnicowania. Udowodniono także znaczącą korelację TGF - beta z procesem bliznowacenia, który może nasilać nadmierną odpowiedź zapalną w fazie gojenia [20, 22, 23].

1.1.6. PEPTYDY PRZECIWDROBNOUSTROJOWE NASKÓRKA

Peptydy przeciwdrobnoustrojowe (*antimicrobial peptides* - AMP) to komponenty tworzące naturalne składniki układu odpornościowego skóry. Prezentują szerokie spektrum względem aktywności przeciwdrobnoustrojowej, obejmującej wirusy, bakterie i grzyby [7, 24]. Ludzki organizm jest wyposażony w ponad 100 tychże peptydów, stanowiących integralny element wrodzonej odporności. Oprócz właściwości ochronnej tarczy przeciw patogenom, AMP wykazują zdolność stymulacji emisji cytokin, migracji i proliferacji komórek, ich różnicowania, pobudzania angiogenezy, jak również gojenia ran [24, 25].

AMP to peptydy zawierające głównie od 12 do 50 aminokwasów w cząsteczce. Podstawowy mechanizm ich działania oparty jest na permeabilizacji i niszczeniu błon komórkowych, czego rezultatem jest śmierć komórki. Nie mniej jednak, ta właściwość nie jest uniwersalna, dlatego dla poszczególnych związków determinuje ją szereg istotnych parametrów, jak stosunek stężenia lipidów błonowych do stężenia peptydu czy sekwencja aminokwasowa [24].

Wykazują ładunek dodatni z dominującym udziałem kationowych reszt lizyny oraz argininy, przy około 50% udziale reszt hydrofobowych. Tego typu możliwości zapewniają reakcję wiązania tychże substancji z ujemnie naładowaną powierzchnią komórek docelowych. W większości przypadków odbywa się dezintegracja błon komórkowych mikroorganizmów

za sprawą lizy, która zachodzi poprzez tworzące się oddziaływania hydrofobowe i elektrostatyczne pomiędzy ładunkiem dodatnim AMP a ujemnym patogenów. W przypadku bakterii Gram - dodatnich ładunek ten zapewnia kwas teichojowy połączony z peptydoglikanem lub błoną plazmatyczną [7, 26]. Grupy fosforanowe, jako element kwasu, odpowiadają za wypadkowy ładunek ujemny. Z kolei bakterie Gram - ujemne uzyskują ujemny ładunek na powierzchni komórki za sprawą obecności w otocze zewnętrznej lipopolisacharydów i fosfolipidów [24, 26].

Dwie główne grupy peptydów mające wpływ na przeciwdrobnoustrojową obronę skóry, to beta - defensyny i katelicydyny. Beta - defensyny stanowią bogate w cysteinę kationowe peptydy, obecne są w naskórku, gdzie wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec bakterii Gram - dodatnich i Gram - ujemnych, *Candida albicans* oraz grzybów. Katelicydyny z kolei stanowią odmienną rodzinę AMP, która posiada C - terminalne segmenty kationowe przejawiające aktywność względem patogenów, szczególnie aktywnie uczestniczą w obronie przeciwwirusowej skóry [7].

1.1.7. NATURALNY CZYNNIK NAWILŻAJĄCY NMF

Aminokwasy i ich metabolity, będące substancjami ubocznymi degradacji filagryny, wydzielanymi przez ziarnistości blaszkowate, tworzą naturalny czynnik nawilżający (*natural moisturizing factor* - NMF). Jego lokalizację stanowią wyłącznie komórki warstwy rogowej, którym zapewnia utrzymanie odpowiedniej wilgoci [7, 13]. Tę cechę warunkuje skład chemiczny oparty na związkach wysoce rozpuszczalnych w wodzie. Dzięki temu NMF wykazuje zdolność absorpcji dużych ilości wody, nawet w warunkach znacznie obniżonej wilgotności i pozwala zatrzymać wodę, która przechodzi przez warstwy komórek podczas dyfuzji. To umożliwia regulować odpowiednie nawilżenie skóry nawet w środowisku niezmiernie suchym. Ponadto, NMF stanowi także środowisko wodne, niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania enzymów [9, 10].

1.1.8. MECHANIZM PRZEZNASKÓRKOWEJ KINETYKI WODY

Woda, która stanowi rezerwuuar w skórze właściwej, przemieszcza się na zewnątrz, gdzie następuje jej odparowanie. W ten sposób określa się stały przepływ wody, wynosi on średnio 5g wody/m²/h. W związku z jej utratą następuje uzupełnienie ilości wody poprzez mechanizm dyfuzji, co zapewnia odpowiednią kompensację strat. Utrata wody przez naskórek określana jest mianem transepidermalnej utraty wody (*transepidermal water loss* - TEWL) i jest zależna od obecności ceramidów bogatych w kwas linolowy, cholesterolu oraz kwasów tłuszczowych [5, 7].

Oprócz właściwej budowy skóry istnieją również czynniki zewnętrzne, pełniące istotną rolę w procesie parowania:

- zimno, zmniejszające wydzielanie łoju, co może przyczyniać się do wzrostu TEWL
- środki powierzchniowo czynne, usuwające zarówno płaszcz wodnolipidowy, jak i część lipidów cementu międzykomórkowego, co wpływa na wzrost przepuszczalności warstwy rogowej i utratę wody
- wentylacja, przyczyniająca się do wzrostu parowania wody z naskórka [5].

1.2. GRANICA SKÓRNO - NASKÓRKOWA, STREFA BŁONY PODSTAWNEJ

Przyleganie naskórka do skóry właściwej umożliwia granica skórno - naskórkowa. To cienka struktura usytuowana pod warstwą podstawną naskórka, składająca się z błony podstawnej. Błona stanowi niejedolitą postać, tworzącą blaszkę jasną i gęstą oraz włókienka kolagenowe blaszki siateczkowej [1, 5, 6]. Blaszką jasną obejmuje keratynocyty, subtelne wypustki komórek nabłonkowych oraz makrocząsteczki glikoprotein - lamininy i proteoglikany. Główne składniki blaszki gęstej stanowią: kolagen typu IV, niescharakteryzowany antygen kolagenowy KF1 oraz proteoglikany, szczególnie w postaci siarczanu heparanu. Pod blaszką ciemną znajduje się obszar blaszki siateczkowej, który zawiera fibrylarne cząsteczki kolagenu typu VII, definiowane również jako włókna kotwiczące [12, 13, 20].

1.3. SKÓRA WŁAŚCIWA

Skóra właściwa jest pochodzenia mezodermalnego. Jej budowę stanowi tkanka łączona właściwa, zawierająca komórki łącznotkankowe, naczynia krwionośne i limfatyczne, nerwy oraz przydatki skóry. Wyróżnia się dwie jej części: warstwę brodawkowatą i warstwę siateczkowatą, stanowiącą około 80% grubości całej skóry [3, 5, 9].

Warstwa brodawkowata, leżąca pod naskórkiem cechuje się luźną konstrukcją tkanki łącznej właściwej, obejmując brodawki [6, 8]. Warstwa ta zawiera również komórki, takie jak: fibrocyty, fibroblasty, leukocyty, makrofagi, komórki plazmatyczne czy komórki tuczne [11, 13, 14, 20].

Warstwa siateczkowata zbudowana jest z tkanki łącznej właściwej zbitej, obejmuje warstwy głębsze, sięgające tkanki podskórnej. Zawiera wiele włókien sprężystych i kolagenowych [6, 8].

Elementy włókniste skóry właściwej zatopione są w bezpostaciowym żelu proteoglikanowym - mukopolisacharydowym. Proteoglikany zbudowane są z białka nośnikowego połączonego z glikozaminoglikanami - wśród nich między innymi kwas hialuronowy czy aminy wielocukrowe. Te połączenia dopełniają cząsteczki siarczanowe, jak kwas chondroitynosiarkowy i siarczan dermatanu. Taka postać żelu stanowi doskonały rezerwuuar dla wody [3, 5, 9].

1.3.1. WŁÓKNA KOLAGENOWE. TYPY KOLAGENU W SKÓRZE WŁAŚCIWEJ

Kolagen stanowi białkową makrocząsteczkę, będąc najważniejszym składnikiem macierzy zewnątrzkomórkowej. Tworzą go trzy polipeptydowe łańcuchy w postaci potrójnej spirali - superhelisy, której długość wynosi 300 nm, a średnica 1,5 nm [7, 27, 28]. Charakterystyczna cecha kolagenu, to sekwencja powtórzeń aminokwasów, gdzie co trzeci stanowi glicyna. Ponadto, występują duże ilości proliny oraz hydroksyproliny tworzące wiązania wodorowe, jak również lizyny, oddziałującej elektrostatycznie z kwasem asparginowym. Całość łańcucha może tworzyć nawet 1000 aminokwasów [5, 14, 15, 27]. Największa jego ilość w skórze właściwej obejmuje warstwę siateczkowatą. Nadaje skórze wytrzymałość i stanowi jedno z najmocniejszych i najczęściej występujących w skórze człowieka naturalnych białek [7, 15]. Główne typy kolagenu przedstawiono w tabeli nr 1.

Kolagen jest syntetyzowany w rybosomach fibroblastów w dwóch fazach:

- faza wewnątrzkomórkowa, odpowiedzialna za powstawanie łączących się ze sobą łańcuchów białkowych. To faza, w trakcie której wytworzony zostaje prokolagen, poprzez enzymatyczną hydroksylację proliny oraz lizyny, przy udziale kwasu askorbinowego, jonów żelaza oraz alfa - ketoglutaranu [3, 6, 5, 15]. Zanim fibroblasty uwolnią jego postać, dochodzi do odcięcia telopeptydów z obu części cząsteczki, dzięki czemu powstaje tropokolagen o masie cząsteczkowej w zakresie 300 000 Da [5, 7, 27]
- faza pozakomórkowa, to etap opuszczania fibroblastów przez cząsteczki tropokolagenu i ich łączenia się ze sobą celem utworzenia włókien kolagenowych [5, 28].

Tabela 1. Główne typy kolagenu występujące w skórze [na podstawie 7].

Typ kolagenu	Inna nazwa	Występowanie	Funkcja	% skóry właściwej	Powiązane choroby
I	Włókna kolagenowe	KOŚCI, ŚCIĘGNA, SKÓRA WŁAŚCIWA	ZAPEWNIĄ WYTRZYMAŁOŚĆ NA ROZCIĄGANIE	80	
III	Kolagen płodowy, włókna retikulinowe	SKÓRA WŁAŚCIWA, NACZYNIA, PRZEWÓD POKARMOWY	NADAJE ODKSZTAŁCALNOŚĆ	15	
IV		STREFA BŁONY PODSTAWNEJ	TWORZY SIATKĘ		
V		SKÓRA WŁAŚCIWA-CHARAKTER ROZPROSZONY	NIEZNANA	4-5	
VII		WŁÓKNA KOTWICZĄCE	STABILIZUJE GRANICĘ SKÓRNO-NASKÓRKOWĄ		NABYTE PĘCHERZOWE ODDZIELANIE SIĘ NASKÓRKA (EBA), DYSTROFICZNE PĘCHERZOWE ODDZIELANIE SIĘ NASKÓRKA (EB)
XVII	BPAG2, BP180	HEMIDESMOSOMY	ROLA STRUKTURALNA		PEMFIGOID PĘCHERZOWY (BP), PEMFIGOID CIĘŻARNYCH

1.3.2. WŁÓKNA ELASTYNOWE

Elastyna jest białkiem helikoidalnym, stanowiącym 2 - 4% skóry właściwej. Włókna elastyny, tzw. sprężyste mają średnicę 0,2 - 1,0 μm i występują w postaci sieci. Zawierają 2 składniki: rdzeń w postaci elastyny - amorficznego, nierozpuszczalnego białka tkanki łącznej (stanowiącego 90% masy włókna) oraz mikrofibryle - złożone z glikoprotein fibryliny, stanowiące rusztowanie o szerokości 10 nm [5, 7, 20]. Elastyna należy do białek zwanych skleroproteinami, które są bardzo rozciągliwe - pod wpływem oddziaływania siły mogą zwiększać nawet do 50% swojej długości, wracając następnie do wyjściowych rozmiarów. Dlatego jej włókna nadają skórze elastyczność i sprężystość, reprezentując jeden z bardziej znaczących składników macierzy zewnątrzkomórkowej (*extracellular matrix* - ECM). Jako wielodomenowe białko sygnałowe, elastyna zabezpiecza skórę przed nadmiernym rozciągnięciem [3, 8, 10, 11, 20].

Proces syntezy elastyny odbywa się w fibroblastach z prekursora - tropoelastyny. Antagonistycznie względem włókien kolagenowych, włókna elastynowe w skórze właściwej są obecne na różnych etapach dojrzałości [5, 15]. Kształtująca się postać tego białka, włókna oskrytanowe, zawierające wyłącznie mikrofibryle fibryliny, usytuowane są prostopadle od granicy skórno - naskórkowej do górnej części warstwy siateczkowej [7, 15]. Wchodzą w interakcję z proteoglikanem siarczanu heparyny. Z kolei bardziej dojrzałe włókna elastynowe, definiowane jako elaunina, tworzą horyzontalne przyczepy do splotu włókien zlokalizowanych w warstwie siateczkowej skóry właściwej. Większa ich dojrzałość wynika z liczniej występującej elastyny, odłożonej na sieci fibryliny. Natomiast najbardziej dojrzałe włókna elastynowe, niestanowiące odrębnej nomenklatury, dominują w głębokich strukturach warstwy siateczkowej w postaci grubych, poziomo rozmieszczonych włókien [7, 15, 29].

Mikrofibryle odgrywają znaczącą rolę w elastogenezie, stanowiąc miejsce zakotwiczenia dla gromadzącej i odkładającej się tropoelastyny. Przylegają one do fibroblastów i są równoległe względem rozrastających się włókien elastynowych. Tworząc szablon dla tropoelastyny, umożliwiają usieciowanie jej polipeptydów wiązaniami kowalentnymi, formując w ten sposób elastynę [7, 9, 15]. Polipeptydy tropoelastyny zawierają usytuowane naprzemiennie strefy hydrofilowe i hydrofobowe. Dowiedziono, iż domeny hydrofobowe obfitujące w glicynę, prolinę i walinę zapewniają elastyczność. Domeny hydrofilowe zaś, zawierające lizynę i alaninę, wchodzą w interakcje z oksydazą lizyny, co odbywa się w niezbędnym dla właściwego funkcjonowania i stabilności elastyny procesie sieciowania. Reakcja ta związana jest z obecnością miedzi i formowaniem desmozyny i izodesmozyny -

aminokwasów aromatycznych, znakujących elastynę, które nadają jej właściwości mechaniczne [7, 29].

1.3.3. FIBROBLASTY - KOMÓRKI SKÓRY WŁAŚCIWEJ

Najliczniejszą grupę komórek tkanki łącznej stanowią fibroblasty. To wrzecionowate komórki z eliptycznym jądrem o bardzo dużej aktywności aparatu Golgiego, siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, jak i wakuoli wydzielniczych. Posiadają liczne mitochondria, jak również umożliwiające ich przemieszczanie aktynowe filamenty. Zasadniczą funkcją fibroblastów jest produkcja włókien kolagenowych, elastynowych oraz siateczkowych. Produkują także wszystkie składniki istoty podstawowej substancji międzykomórkowej, jak proteoglikany i glikoproteiny. Ponadto, wydzielają enzymy: kolagenazę i stromelizynę - metaloproteinazę przecinającą łańcuchy białek z wytworzeniem peptydów [7, 20].

Mniej sprawną metabolicznie, starszą i bardziej spoczynkową formę fibroblastów stanowią fibrocyty. Mają podłużne jądra o zbitej chromatynie, jednakże reprezentują rolę w procesach naprawczych, wykazując ekspresję markerów komórek podścieliska, jak kolagen typu I i III czy fibronektyna [20, 30].

1.4. TKANKA PODSKÓRNA

Nie występuje wyraźna granica między skórą właściwą a tkanką podskórną. Uwidacznia się jedynie stopniowa modyfikacja wyglądu tkanki łącznej. Jest ona bowiem wiotka, choć ma tę samą budowę, co w skórze właściwej, ale występuje w niej głównie żel proteoglikanowy, kolagen typu I, III i V, jak również dodatkowo pojawiają się adipocyty - komórki tłuszczowe w formie zrazików, które gromadzą trójglicerydy [10, 12, 31, 32].

Adipocyty są syntetyzowane z preadipocytów, kształtem przypominających fibroblasty, jednakże o wypełnieniu tłuszczowym. Początkowo wrzecionowaty kształt preadipocytu ulega stopniowej modyfikacji zyskując postać zaokrągloną i przekształcającą się w adipocyty [5, 20, 31, 32].

Tkanka tłuszczowa charakteryzuje się kompleksowymi interakcjami zarówno z układem krążenia, jak również endokrynnym. Traktuje się ją jako organ układu dokrewnego, zdolny do wydzielania peptydów [31, 32]. Funkcje tkanki tłuszczowej, jak również czynniki przez nią uwalniane przedstawiono w tabeli nr 2 i nr 3.

Tabela 2. Funkcje tkanki podskórnej [na podstawie 31].

FUNKCJE TKANKI TŁUSZCZOWEJ
Magazyn energii
Izolacja
Termoregulacja
Funkcje wewnątrzwydzielnicze
Źródło komórek macierzystych
Synteza czynników wzrostu oraz cytokin
Źródło kwasów tłuszczowych dla błon komórkowych
Wsparcie układu odpornościowego
Tworzenie konturów ciała

Tabela 3. Czynniki uwalniane przez tkankę tłuszczową [na podstawie 31].

CZYNNIKI	FUNKCJA	TŁUSZCZ TRZEWNY	TŁUSZCZ PODSKÓRNY
Lipaza lipoproteinowa	Metabolizm lipidów	+	+
Leptyna	Hormon sytości, angiogeneza	+	++
	Rozwój cech płciowych, regulacja gospodarki lipidowej, białkowej i wapniowej, wzrost krzepliwości krwi	+	+
Białko stymulujące acylację (ASP)	Pobudza acylację związków organicznych w procesie powstawania związków tłuszczowych, pobudza estryfikację kwasów tłuszczowych do Tg	+	++
Inhibitor aktywatora plazminogenu (PAI-1)	Hamuje wytwarzanie plazminy	++	+
Adiponektyna	Przeciwzapalna, przeciwmiażdżycowa, wzrost wrażliwości komórek na insulinę,	++	+
Angiotensynogen	Regulacja ciśnienia krwi	++	+
Czynnik martwicy guzów alfa (TNF-alfa)	Upośledzenie receptorów dla insuliny, obniżenie produkcji białek dla transportu glukozy	++	+
Insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1)	Pobudzenie syntezy białek, zwiększenie regeneracji tkankowej	+	+

CZYNNIKI	FUNKCJA	TŁUSZCZ TRZEWNY	TŁUSZCZ PODSKÓRNY
Interleukina - 6	Wzrost oporności komórek na insulinę	++	+

1.5. UNACZYNIENIE SKÓRY

Naczynia krwionośne mają przebieg od tkanki podskórnej, poprzez skórę właściwą, sięgając granicy skórno - naskórkowej. Naskórek nie jest unaczyniony, jednakże jest odżywiany drogą dyfuzji ze skóry właściwej [3, 5, 9].

Naczynia skóry tworzą głęboki spłot naczyniowy na granicy skóry właściwej i tkanki podskórnej oraz powierzchowny spłot podbrodawkowy. W skład układu naczyniowego skóry wchodzi naczynia przedwłosowate, włosowate, tętnicze i żyłne [3, 8, 20].

W skórze właściwej występuje także sieć naczyń limfatycznych. W warstwie brodawkowej zaczynają się naczynia limfatyczne o charakterze włosowatym, aby poniżej tej warstwy przejść w naczynia większego kalibru, doprowadzając limfę do regionalnych węzłów chłonnych [5, 15].

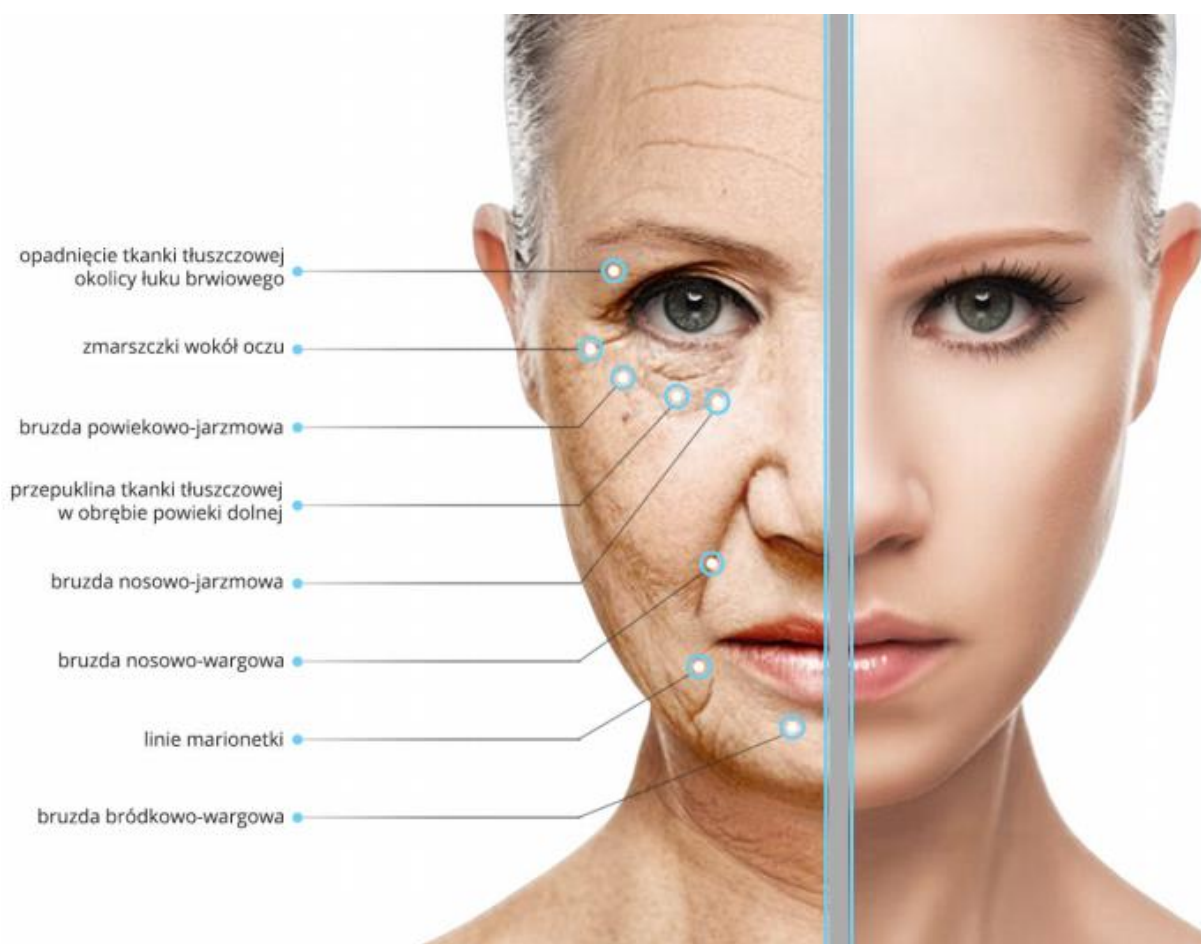
1.6. UNERWIENIE SKÓRY

Skóra stanowi bardzo rozgałęzioną sieć nerwową, jest unerwiona przez dwa rodzaje włókien: wegetatywne oraz czuciowe, które wzajemnie się przeplatają. Unerwienie wegetatywne w postaci włókien współczulnych układu autonomicznego, to włókna bezielinowe unerwiające naczynia krwionośne oraz przydatki skóry [5, 9, 10]. Unerwienie skórne czuciowe stanowi podstawę zmysłu, w którym można wyodrębnić:

- wolne zakończenia nerwowe odpowiedzialne za odczuwanie bólu, temperatury, świądu
- upostaciowione zakończenia nerwowe wyspecjalizowane w odbieraniu konkretnych bodźców:
 - ciała *Vater-Pacini* - receptory dotyku i ucisku
 - ciała *Meissnera* - receptory dotyku
 - ciała *Ruffiniego* - receptory ciepła
 - ciała *Krausego* - receptory zimna
- zakończenia nerwowe związane z mieszczkami włosowymi [3, 5].

2. ASPEKTY STARZENIA SIĘ SKÓRY

Przebieg starzenia skóry jest wieloczynnikowy, dychotomiczny oraz złożony, ponieważ zmiany funkcjonalne, strukturalne, jak i estetyczne zachodzą w różnym tempie. Niemniej jednak stanowi naturalny proces oparty na zmniejszeniu aktywności biologicznej komórek skóry, spowolnieniu procesów regeneracyjnych, jak i utracie właściwości adaptacyjnych. Ponadto, to właśnie skóra twarzy jest najbardziej narażona na destrukcyjne oddziaływanie czynników zewnętrznych, wyzwalających jej szybsze starzenie, aniżeli pozostałe części ciała - ryc. 2 [5, 33].



Ryc. 2. Wizualne aspekty starzenia się twarzy [opracowanie własne].

2.1. ZMIANY HISTOLOGICZNE W PRZEBIEGU STARZENIA

Proces starzenia obejmuje wszystkie warstwy skóry, począwszy od naskórka aż po tkankę podskórną. Jednakże najbardziej nasilone zmiany biochemiczne i histologiczne zachodzą w skórze właściwej. Zmiany histopatologiczne zachodzące w poszczególnych warstwach skóry przedstawiono w tabeli nr 4 [33, 34, 35].

Tabela 4. Zmiany histologiczne spowodowane starzeniem w poszczególnych warstwach skóry [opracowanie własne na podstawie 5, 36 - 40].

<u>NASKÓREK</u> • horyzontalne - spoczynkowe ułożenie komórek warstwy podstawnej, ich spłaszczenie - spadek zdolności proliferacji keratynocytów • atrofia warstwy kolczystej i ziarnistej - ścieńczenie żywych warstw naskórka • zwiększenie grubości warstwy rogowej, zmniejszenie przylegania korneocytów • zmniejszenie wydzielania łoju - wysuszenie skóry poprzez spadek zdolności zatrzymywania i wiązania wody, zmiana składu błony hydrolipidowej, zmiana pH na bardziej kwaśne (spadek odporność skóry) • zmniejszenie liczby melanocytów, ich grupowanie się • zmniejszenie komórek Langerhansa - zmiana odpowiedzi immunologicznej • spadek NMF, wzrost TEWL
<u>GRANICA SKÓRNO - NASKÓRKOWA</u> • spłaszczenie komórek • utrata wypustek cytoplazmatycznych keratynocytów, spadek adhezji międzykomórkowej - ograniczenie wymiany metabolicznej między warstwami naskórka i skóry właściwej • spadek ilości kolagenu typu IV, VII - ścieńczenie warstwy
<u>SKÓRA WŁAŚCIWA</u> • fibroblasty stają się mniejsze, okrągłe, spada ich ilość. Wykazują cechy komórek spoczynkowych ze zmniejszoną ilością pęcherzyków sekrecyjnych w cytoplazmie • zmiana ilościowa i jakościowa żelu proteoglikanowego. Utrata kwasu hialuronowego, siarczanu dermatanu - mniejsza zdolność wiązania wody • zmniejszenie syntezy włókien kolagenowych, głównie typu III, w stopniu mniejszym typu I. Włókna kolagenowe ulegają fragmentacji, stają się twarde, sztywne, pofałdowane, chaotycznie rozmieszczone, w ich obrębie odkładają się jony wapnia • fragmentacja i wapnienie włókien elastynowych, zmniejszenie ich liczby oraz przerost w wyniku degradacji fibryliny - elastoza starcza • zmniejszenie liczby makrofagów - brak proteinaz i kolagenazy umożliwiających trawienie usieciowanego kolagenu • zmniejszenie rozmiarów, czynności sekrecyjnej gruczołów łojowych i potowych - wysuszenie skóry • zmniejszenie łożyska naczyniowego, osłabienie przepływu włosniczki - spadek odżywienia, dotlenienia, uszkodzenie termoregulacji
<u>TKANKA PODSKÓRNA</u> • atrofia w obszarze górnych częściach twarzy, na łuku brwiowym, na skroniach • zaburzenie lipogenezy oraz różnicowania adipocytów • zmniejszenie zdolności adipocytów do gromadzenia trójglicerydów • przemieszczanie się tłuszczu z okolicy podoczodołowej - gromadzenie się tkanki tłuszczowej w dolnej partii twarzy, nad fałdem nosowo - wargowym, na żuchwie

2.1.1. FIBROBLASTY - MECHANICZNA INTERAKCJA Z MATRYCĄ KOLAGENOWĄ

Fibroblasty są zaprogramowane rozwojowo do produkcji matrycy kolagenowej, stanowiącej główny składnik strukturalny tkanki łącznej. Na powierzchni komórki posiadają receptory - integryny, które specyficznym przylaczają się do białek macierzy, w tym kolagenu typu I [41, 42]. Ta przyczepność zapewnia im rozciągniętą i wydłużoną morfologię oraz fizyczne oddziaływanie z włóknami kolagenowymi celem utrzymania prawidłowej wielkości i siły mechanicznej, jak i zdolności proliferacyjnych [43, 44].

Dlatego napięcie mechaniczne sprzyja syntezie komponentów skórnej macierzy pozakomórkowej [41, 45]. Wyzwalający fragmentację białkową i degradację ECM proces starzenia sprawia, iż przyczepność fibroblastów względem matrycy staje się zaburzona. To z kolei powoduje, iż tracą swoją morfologię i wielkość, osłabiając przy tym mechaniczne oddziaływanie z włóknami kolagenowymi, co doprowadza do upośledzenia ich funkcji [44, 46]. Zmniejszona wielkość fibroblastów oraz utrata ich strukturalnej integralności, to także mniejsza produkcja TGF - beta oraz wzrost ekspresji metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (*matrix metalloproteinases* - MMP), co zwrótnie degeneruje komponenty ECM [41, 42, 44, 45]. Metaloproteiny MMP są odpowiedzialne bowiem za degradację białek macierzy pozakomórkowej, klasyfikowane jako kolagenazy, żelatynazy, stromeloizyny i MMP typu błonowego. TGF - beta zaś odgrywa centralną rolę w biosyntezie ECM, kontrolując hemostazę kolagenu poprzez regulację zarówno jego syntezy, jak i procesu degradacji [42, 43, 45, 46].

2.2. STARZENIE ENDOGENNE – WEWNĄTRZPOCHODNE

2.2.1. CHRONOLOGICZNE, ZWIĄZANE Z WIEKIEM

Teoria skracania telomerów - teoria Hayflicka

Zasadniczą rolę w procesie starzenia pełnią telomery, których długość wraz z wiekiem ulega skróceniu, a to prowadzi do uszkodzenia komórki i zaburzenia jej prawidłowego podziału, przyczyniając się do starzenia na poziomie komórkowym [47]. Telomery zbudowane są z kilkuset powtórzeń krótkich sekwencji: tymina – adenozyina - guanina. Ich funkcją jest ochrona DNA w zakończeniach chromosomów przed skracaniem, zachodzącym w trakcie podziałów. Stanowią swoisty replikometr komórki. Zmniejszona wraz z wiekiem aktywność telomerazy - enzymu odpowiedzialnego za replikację telomerów

i podtrzymywania właściwego procesu podziału, powoduje zaburzenia pracy komórek czy ich obumarcie [48, 49].

Teoria mitochondriów

Liczba i aktywność mitochondriów maleje proporcjonalnie do wieku, co przekłada się na zmniejszenie syntezy adenosynotrójfosforanu (ATP) - nukleotydu stanowiącego główny nośnik energii w komórkach. A to z kolei upośledza zdolność regeneracyjną komórek. Wzrost liczby uszkodzeń niepodlegających procesowi naprawy, jaki ma miejsce w procesie starzenia, sprzyja redukcji ilości ATP. Taki proces zaburzeń i nieprawidłowości może przyczyniać się do śmierci komórek [47, 49].

Teoria membranowa (błon)

Zmiany w składzie błony komórkowej postępujące wraz z wiekiem przyczyniają się pogłębienia procesu starzenia. Następuje zmiana ich zawartości poprzez zwiększenie ilości lipidów, a to z kolei zaburza transport przez błony komórkowe i w konsekwencji prowadzi do gromadzenia się toksycznych substancji w cytoplazmie. Modyfikacje, które dotyczą membran powodują także nieodwracalne nasilenie ich sztywności i lepkości, co dezorganizuje pracę komórek [47, 48].

Teoria zaburzeń białek

Wraz z wiekiem zmniejsza się zdolność syntezy białek, co powoduje upośledzenie normalnego funkcjonowania komórek. Zaburzenie tego mechanizmu na poziomie molekularnym zakłóca sprawność receptorów odpowiedzialnych za ekspresję genów, powstawanie i transformację energii, wewnątrz- i zewnątrzkomórkową komunikację czy funkcjonowanie systemów obronnych i naprawczych. Co więcej, ta teoria udowadnia, iż w procesie starzenia maleją nawet o 20 - 80% możliwości syntezy białek, zaburzając tym samym sprawne funkcjonowanie organizmu [47, 49].

Teoria glikacji białek - reakcja Maillarda

Glikacja kolagenu i białek macierzy zewnątrzkomórkowej odgrywa istotną klinicznie rolę w procesie starzenia. Polega na nieenzymatycznym przyłączeniu redukującej cząsteczki cukru w postaci glukozy czy fruktozy do kolagenu lub białek ECM. Reakcja przyłączenia obejmuje głównie boczne grupy aminowe argininy oraz lizyny łańcuchów białkowych, a produkt tego procesu przechodzi reakcje utleniania [47, 50, 51]. Te zaś tworzą zaawansowane

produkty finalne glikacji (*advanced glycation end products* - AGE), które są zaangażowane w proces starzenia. Następuje kumulacja AGE na włóknach kolagenu i elastyny. W rezultacie glikacji włókna kolagenowe tracą zdolność kurczliwości, stają bardziej sztywne i odporne na remodelowanie MMP [50, 52]. Ponadto, glikowany kolagen wywiera ogromny wpływ na aktywny cytoszkielet fibroblastów, zmniejszając ich interakcję z matrycą kolagenową. Co więcej, cząsteczki AGE dezaktywują naturalne przeciwutleniacze w skórze [51, 53].

Im wyższy poziom cukru we krwi, tym szybciej zachodzi reakcja glikacji. Po zjedzeniu posiłku bogatego w cukier poziom glukozy we krwi gwałtownie rośnie. Insulina nie radzi sobie z jej przetwarzaniem, dlatego cząsteczki glukozy, fruktozy przyłączają się do białek w komórkach [47, 50, 51].

Istnieją również naukowe dowody, że ekspozycja na czynnik UV może przyczyniać do zwiększonej produkcji i oddziaływania AGE, co podkreśla w swoich badaniach między innymi Farrar [54]. Ponadto, zmodyfikowane przez produkty glikacji białka mogą wykazywać cechy endogennych czynników fotouczulających [47, 52].

2.2.2. HORMONALNE

Ten rodzaj starzenia wywołany jest starzeniem się gruczołów wydzielania wewnętrznego i spadkiem poziomu wydzielanych hormonów. Z wiekiem, już po 20 r.ż. spada poziom hormonu wzrostu - somatotropiny, który poprzez insulinopodobny czynnik wzrostu IGF - 1 (*insulin - like growth factor* - 1), wpływa stymulująco także na komórki skóry. Jednak najbardziej istotny dla hormonalnego starzenia skóry jest spadek poziomu hormonów płciowych, które uczestniczą w wielu zjawiskach immunologicznych toczących się w skórze [48, 49, 55]. Dominującą rolę w tym zakresie przejmują estrogeny, które oddziałują zarówno na fibroblasty i keratynocyty, jak i na komórki śródbłónka, limfocyty T, komórki dendrytyczne i makrofagi. Ich interakcję ze skórą zapewniają receptory alfa i beta, gdzie receptor alfa występuje w fibroblastach i makrofagach, natomiast receptor beta ma swoją lokalizację w keratynocytach oraz komórkach skóry właściwej [47, 49].

Klinicznie starzenie hormonalne manifestuje się zatem ścieńczeniem skóry, spadkiem ilości kolagenu i elastyczności skóry, obecnością zmarszczek czy suchością skóry. Niedobór estrogenów u kobiet zmniejsza grubość skóry o 1,13%, a zawartość kolagenu o 2% w pierwszym roku pomenopauzalnym. Co ciekawe, w ciągu pierwszych pięciu lat po menopauzie ilość kolagenu typu I i III zmniejsza się aż o 30% [55].

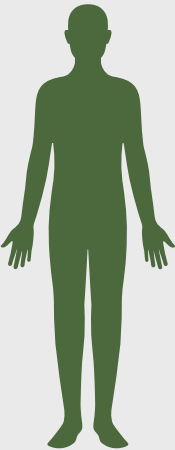
2.3. STARZENIE EGZOGENNE – ZEWNĄTRZPOCHODNE

2.3.1. FOTOSTARZENIE

Starzenie słoneczne można definiować jako przewlekły proces zapalny oraz stopniowego bliznowacenia, nasilany innymi czynnikami środowiskowymi. W procesie fotostarzenia skóry największą rolę odgrywają promienie UVA i UVB, co obrazuje tabela nr 5 [42]. Promieniowanie UVB odpowiedzialne jest za oparzenia skóry i zatrzymywane w 90% przez warstwę rogową naskórka, obejmując głównie keratynocyty i komórki Langerhansa. Jednakże wyzwała indukcję czynników zapalnych pośrednio oddziałując również na skórę właściwą. UVA z kolei ma głębszy zasięg penetracji, sięgając całej skóry właściwej - w ponad 50% przenika do warstwy siateczkowej i brodawkowatej, wchodząc w reakcję z fibroblastami, komórkami śródbłona naczyń, komórkami dendrytycznymi, limfocytami T, komórkami tuczными oraz granulocytami, jak również włóknami kolagenowymi i elastynowymi [42, 56, 57]. Stąd ten rodzaj widma światła wywołuje przebarwienia i reakcje opóźnione, uszkodzając struktury całej skóry, doprowadzając przy tym do zmian DNA i powstawania mutacji [58].

Zakres szkód wyrządzonych promieniowaniem UV, co podkreśla w swoich badaniach Fisher i wsp., jest wprost proporcjonalny do stopnia ekspozycji i odwrotnie proporcjonalny do genetycznie uwarunkowanej pigmentacji skóry [41]. Ponadto, dowodzi on również, iż jednorazowa ekspozycja na czynnik UV powoduje prawie całkowitą utratę syntezy prokolagenu, która utrzymuje się przez 24 godziny, powracając do normy po okresie 48 - 72 godzin. Zaburzony szlak produkcji prokolagenu wynika z zaburzenia oddziaływania TGF - beta, kontrolującego jego ekspresję, co dowiedli Quan i wsp. [42].

Tabela 5. Przenikanie promieniowania UV przez skórę. Promieniowanie UVC, mimo iż cechuje się najwyższą energią i wykazuje działanie rumieniotwórcze, bakteriobójcze oraz uszkodzające rogówkę; nie oddziałuje znacząco na skórę w wyniku prawie całkowitej absorpcji przez warstwę ozonową atmosfery [opracowanie własne na podstawie 42, 47, 56].

GŁĘBOKOŚĆ PRZENIKANIA		RODZAJ PROMIENIOWANIA		
		UVA 320-400 nm	UVB 290-320 nm	UVC 100-290 nm
	Naskórek			
	Skóra właściwa			
	Tkanka podskórna			

Promienie UV oddziałując z fotochromoforami skóry, takimi jak kwas urokainowy czy melanina, przyczyniają się także do powstawania w jej strukturach wolnych rodników, zwanych również reaktywnymi formami tlenu (*reactive oxygen species* - ROS). Są to związki chemiczne lub jony metali [47, 49, 58]. Zawierają w swoim składzie atomy tlenu z niesparowanym elektronem i powstają jako uboczne produkty reakcji tlenowych, uszkodzając składniki komórkowe, w tym DNA, tym samym przyspieszając i nasilając procesy starzenia. Według hipotezy z 1956 roku autorstwa Amerykanina Denhama Harmana, wolne rodniki stanowią bardzo reaktywne chemicznie cząsteczki, wywołujące toksyczny wpływ na tkanki. W wyniku niespecyficznych reakcji indukują uszkodzenia oksydacyjne, aktywując czynniki transkrypcyjne, jak proteiny - 1 (*activator protein* - 1 – AP - 1) i jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B (*Nuclear Factor kappa B* – NF - kB). Stymulują one wydzielanie metaloproteinaz, zapoczątkowując reakcje zapalne, a to z kolei prowadzi do degradacji kolagenu i akumulacji elastyny [47, 58, 59, 60].

2.3.2. STARZENIE ZWIĄZANE Z DYMEM PAPIEROSOWYM

Przedwczesne starzenie indukowane przez dym tytoniowy dotyczy jego interakcji z MMP, szczególnie MMP - 1, doprowadzając do uszkodzeń stelażu białkowego włókien kolagenowych i elastynowych. Wyzwała on również zmiany metaboliczne na poziomie warstwy rogowej, redukując jej wilgotność w związku z diuretycznym efektem nikotyny [47, 62]. Palenie tytoniu wpływa jednocześnie na redukcję poziomu witaminy A, pełniącej istotną rolę w neutralizowaniu i zwalczaniu wolnych rodników. Wiele badań dowodzi także, iż przewlekłe działanie dymu papierosowego zmniejsza kapilary, jak również tętniczy przepływ krwi, skutkując lokalnym niedokrwieniem. To z kolei przekłada się na ograniczenie dostępności składników odżywczych, jak i tlenu oraz doprowadza do nagromadzenia toksycznych produktów przemiany materii, mogących uszkadzać skórę [49, 62, 63].

2.4. MIOSTARZENIE - STARZENIE MIMICZNE

Nieustanny ruch mimicznych mięśni twarzy powoduje kurczenie się i rozkurczanie skóry właściwej. Postępujące w czasie linie wyrażanych i powtarzalnych ekspresji utrwalają się, tworząc zmarszczki. Stanowią one grupę 54 mięśni, wywierając napięcia mechaniczne względem skóry, szczególnie w okolicy czoła i pomiędzy brwiami, oczu, nosa, ust. Napięcia, jakie wywołują mięśnie, przekładają się na naskórek wzdłuż osi prostopadłej mięśnia, tworząc linie o takim samym układzie. Większa dynamika tych mięśni przyczynia się do wczesnego pojawienia zmarszczek mimicznych [47, 48, 64].

2.5. ZMIANY STARZENIOWE W OBJĘTOŚCI MIĘŚNI TWARZY ORAZ BUDOWIE I MASIE KOSTNEJ TWARZOCZASZKI

2.5.1. PROCES STARZENIA MIĘŚNI

Pod skórą usytuowanych jest kilka warstw mięśni i powięzi, które wraz z upływem czasu tracą gęstość i elastyczność, ulegając zmianom grawitacyjnym. Największy proces zanikowy dotyczy środkowej podpory policzka oraz skroni, co przejawia się zagłębieniem poprzecznej strefy policzka, a skronie ulegają wklęsnięciu. Osłabione mięśnie tracą sprężystość - szczególnie mięśnie mimiczne unoszące i rozkurczające. Dominację zyskują zaś włókna

obniżające i kurczące, jak mięsień okrężny ust. Osłabione mięśnie twarzy powodują opadanie policzków, zmianę kształtu twarzy, pojawienie się zmarszczek [47, 64].

2.5.2. PROCES STARZENIA STRUKTURY KOSTNEJ

Upływ czasu zmienia konstrukcję kości, następuje przesunięcie, jak również rotacja kości względem siebie. Kostne rusztowanie w obszarze oczodołów zapada się wraz z wiekiem. Dochodzi do spłaszczenia kości policzkowych, nadając wrażenie ich cofania się. Łuki brwiowe z kolei są bardziej zaznaczone, a zatoki przynosowe powiększają się. Starzeniowa konformacja dotyczy również układu szczęki oraz żuchwy. Szczeka zarówno cofa się, jak i obniża. Żuchwa natomiast wysuwa się do przodu w swojej dolnej części, ulegając przy tym skróceniu [37, 64, 65]. Ponadto, obszar żuchwy objęty wyrostkami zębowymi zapada się oraz cofa. Dodatkowym czynnikiem przyczyniającym się do zmian kształtu czaszki jest postępująca demineralizacja kości, która intensyfikuje się w okresie okołomenopauzalnym i w szczególności obejmuje obszar żuchwy oraz szczęki. Potwierdzają to badania Karunanayake i wsp., którzy dowiedli, iż proces starzenia znacząco wpływa na stan kości. Ocenili tomografią komputerową stan układu kostnego twarzoczaszki w odstępie 10 lat, gdzie najbardziej postępująca resorpcja kostna dotyczyła przedniej ściany szczęki, jak również obręczy oczodołu. Badania antropometryczne dowodzą, iż szkielet czaszki jest strukturą dynamiczną, ewoluującą z wiekiem [47, 64].

Obecna w procesie starzenia przebudowa kostna twarzoczaszki z utratą jej objętości i procesem wypłaszczenia bardzo oddziałuje na zmianę podparcia dla tkanek miękkich, zniekształcając je i doprowadzając do zmiany rysów twarzy czy powstawania dodatkowych zmarszczek [65].

3. KLASYFIKACJA ZABIEGÓW PRZECIWSTARZENIOWYCH W OPARCIU O SPECYFIKĘ SKÓRY TWARZY

Skóra stanowi obszar, który w sposób ciągły podlega zmianom i modyfikacjom. Poza warstwą rogową, to żywa struktura tkankowa, w której każdego dnia zachodzą procesy przebudowy - syntezy i rozpadu. Komórki skóry codziennie obumierają, jak i są produkowane nowe. Macierz zewnątrzkomórkowa ulega ciągłej wymianie. Kwas hialuronowy rozpada się, powstaje nowy. Włókna kolagenowe także podlegają degradacji, jak i syntezie [5, 49].

Dlatego w świecie nauki silny nacisk jest kładziony na poszukiwaniu najskuteczniejszych technologii, aby potencjał skóry i jej możliwości naprawcze wykorzystać jak najpełniej w zabiegach anti - aging. Najnowocześniejsze trendy, to naturalne odmładzanie, bazujące na pobudzaniu własnych komórek skóry do odnowy. Istotnym jest jednak odpowiedni dobór technologii i procedury zabiegowej do problemu, kondycji i wieku skóry [37].

3.1. FAKTURA SKÓRY

Gładka skóra, bez nierówności, to głównie praca z naskórkiem i warstwą brodawkowatą skóry właściwej. W tym celu najbardziej ukierunkowaną terapię stanowi ablacja - odparowanie, którą przeprowadza się przede wszystkim poprzez zastosowanie laseroterapii. Ten rodzaj zabiegów wykorzystuje silne powinowactwo do chromoforu w postaci wody. W wyniku reakcji fototermicznej dochodzi do jej odparowania wraz z tkanką [35, 37, 66, 67]. Następnie podczas procesu gojenia skóra ulega wzmożonej regeneracji, a częściowo uszkodzone włókna kolagenowe ulegają przebudowie, syntetyzowane są również nowe białka, co znacznie wyrównuje, wygładza fakturę skóry [66, 68]. Najbardziej wiodącymi laserami w tym zakresie są laser CO₂ 10 600 nm oraz laser Erbowa: Yagowy (*erbium - doped yttrium aluminium garnet* - Er:Yag) 2940 nm, którego długość światła idealnie pokrywa się z pikiem ablacyjnym dla wody. Dlatego laser CO₂ wykazuje 16 - krotnie mniejsze powinowactwo do wody, aniżeli laser erbowy, co powoduje głębsze odparowanie skóry przy jednorazowym przejściu wiązki laserowej [37, 66, 69]. Z tego powodu obecnie w zakresie zabiegów resurfacingu szczególne korzyści uzyskiwane są z stosowania lasera Er:Yag 2940 nm, który wykazuje możliwość wywoływania ablacji, powodując jednocześnie znacznie mniej niespecyficznych uszkodzeń termicznych w porównaniu z laserem CO₂ [66, 70].

Najnowsze systemy laserowe charakteryzują się połączeniem tradycyjnego lasera ablacyjnego z technologią frakcyjną, która polega na zastąpieniu pojedynczej wiązki laserowej, zespołem kilkudziesięciu mikrowiązek o kontrolowanej głębokości ablacji w głąb skóry. Dzięki temu dochodzi do powstawania mikrourazów, które pozostawiają między sobą nienaruszone mostki będące swoistymi rezerwuarami, przyspieszającymi regenerację danego obszaru [35, 70, 71].

Inną bardzo skuteczną technologię w zakresie pracy z fakturą skóry reprezentuje radiofrekwencja mikroigłowa. To metoda oparta na synergii prądu o częstotliwości fal radiowych i mikronakłuwania. Ta konfiguracja polega na utworzeniu mikrouszkodzeń zarówno w naskórku, jak i w odpowiednich warstwach skóry właściwej oraz pobudzeniu otaczających zdrowych komórek do wzmożonej regeneracji [37, 72]. Skutkuje to globalną przebudową skóry, wybiórczą i bardzo skuteczną stymulacją fibroblastów. Proces regularnych i zaplanowanych nakłuć wspomagany jest diatermią fali radiowej, która oprócz modyfikacji termicznej białek macierzy zewnątrzkomórkowej, pobudza produkcję nowych włókien kolagenowych i elastynowych. Ponadto, duża ilość nakłuć wyzwala mechanizm złuszczenia skóry, który jest bardzo ważny przy wyrównywaniu jej struktury [72].

Algorytm postępowania i doboru zabiegu względem poprawy faktury skóry obejmuje także technologię plazmy azotowej, która stanowi innowacyjną postać ablacji. Plazma ma charakter zjonizowanego gazu, powstaje z cząsteczki azotu poddawanego oddziaływaniu radiofrekwencji [73, 74, 75]. W efekcie tego zjawiska dochodzi do przesunięcia elektronów w jądrze atomu azotu z orbity niższej na wyższe, co skutkuje emisją bardzo dużej energii termicznej. Energia ta jest pochłaniana przez chromofor, jakim jest woda, umożliwiając odparowanie skóry na różnych głębokościach i uruchomienie markerów stanu zapalnego - cytokin i czynników wzrostu, prowadząc do syntezy nowych włókien białkowych i wyraźnego wygładzenia skóry [73, 75, 76].

3.2. GĘSTOŚĆ SKÓRY

Istnieje wiele metod zabiegowych zapewniających zagęszczenie i wzmocnienie skóry właściwej, poprzez zwiększenie ilości i jakości włókien kolagenowych, elastynowych i kwasu hialuronowego. Obecnie oprócz laserów ablacyjnych, frakcyjnych, plazmy azotowej czy radiofrekwencji mikroigłowej, które nie tylko idealnie wpisują się w pracę z fakturą skóry, ale stanowią także niezmiernie skuteczną formę stymulacji jej struktur głębokich, można wyróżnić dodatkowo technologie w postaci laserów nieablacyjnych, światła pulsacyjnego czy

radiofrekwencji [37, 65, 68, 73]. Zabiegi przeciwstarzeniowe na nich oparte nie wymagają czasu rekonwalescencji, ponieważ skóra nie jest uszkodzona [37].

Bardzo popularnym laserem nieablacyjnym przeznaczonym do głębokiego termoliftingu skóry jest laser neodymowo - yagowy (*neodymium - doped yttrium aluminium garnet* - Nd:Yag) 1064 nm, którego wiązka światła wychwytuje wodę głównie w warstwie siateczkowatej skóry właściwej, doprowadzając do jej podgrzania. Wyzwolony proces termiczny powoduje częściową denaturację kolagenu, prowadząc do uruchomienia odczynowej kaskady mediatorów zapalnych, co prowadzi do syntezy nowych włókien [37, 77, 78]. Podobne właściwości wykazują lasery diodowe - najczęściej o długości 810 nm i 940 nm, jednakże nie oddziałują tak wybiórczo w najgłębszych warstwach skóry [79, 80, 81].

Odminną gałęzią zabiegów nieablacyjnych opartych na działaniu światła jest jego polimorfizm. W przeciwieństwie do cech światła laserowego, charakteryzującego się monochromatycznością - jedną długość fali, koherentnością - spójność i kolimacją - jednokierunkowość, światło to wykazuje właściwości przeciwstawne i stanowi wartość rozproszoną. Najbardziej popularną jego formę reprezentuje intensywne światło pulsacyjne (*Intensive Pulse Light* - IPL) [78, 79, 82]. Światło to obejmuje szerokie spektrum widma, najczęściej w zakresie 400 - 1200 nm, które poprzez zastosowanie odpowiednich filtrów odcinających umożliwia bardziej selektywne nagrzewanie konkretnych chromoforów w skórze [82, 83]. W zakresie zagęszczenia skóry wykorzystywane są dłuższe fale, które mają nieablacyjne powinowactwo do wody i umożliwiają poprzez jej podgrzanie, stymulację fibroblastów oraz termiczną konformację kolagenu. Niemniej jednak, szeroki zakres światła umożliwia opracowywanie niedoskonałości skóry, typu rumień, przebarwienia czy trądzik, co bardzo często jest wykorzystywane w procedurach odmładzania [84, 85].

Zabieg oparty na zagęszczeniu i poprawie jakości skóry będzie także reprezentować radiofrekwencja. Ma ona na celu wygenerowanie kontrolowanego podgrzania skóry, aby wyzwolić procesy regeneracji i przebudowy jej struktury. Następuje stymulacja powstawania nowego kolagenu, zagęszczania i skręcania jego włókien oraz budowania między nimi nowych wiązań [10, 43, 84].

3.3. LIFTING SKÓRY

Mimo iż istnieją skuteczne zabiegi aparaturowe o charakterze napinającym, jednakże zapewnienie typowego, a zarazem bezinwazyjnego liftingu skóry twarzy umożliwia technologia skupionej wiązki fal ultradźwiękowych o dużym natężeniu - HIFU, stworzona

przede wszystkim do tego celu [37, 85]. To jedyna postać energii gwarantująca wytworzenie bardzo wysokiej temperatury w głębokich strukturach tkankowych, bez uszkodzenia warstw wyższych i czasu rekonwalescencji, gwarantując przy tym imponujące zmiany kliniczne. Skupianie fal w postaci punktów koagulacji termicznej odbywa się na jednej z trzech głębokości: 1,5 mm, 3 mm, 4,5 mm. Co więcej, ta technologia umożliwia opracowywanie warstwy powięziowo - mięśniowej (*Superficial Musculo Aponeurotic System* - SMAS), która stanowi niedostępną przestrzeń w odniesieniu do innych technologii [86, 87]. To bardzo istotny obszar stymulacji, ponieważ warstwa SMAS to jedna z najważniejszych podpór dla rysów twarzy i podstawowa struktura pozwalająca skutecznie ją unieść, a jej poluznienie powoduje opadanie wszystkich elementów miękkich twarzy. Zabieg ma na celu pobudzenie procesów regeneracyjnych - powstaje faza stanu zapalnego z migracją komórek i koagulacją białek, następnie faza proliferacyjna z ziarninowaniem i syntezą kolagenu oraz faza przemodelowania z przebudową i wzmocnieniem włókien kolagenowych [85, 88, 89].

3.4. KOLORYT SKÓRY

3.4.1. ZMIANY NACZYNIOWE

W leczeniu zmian naczyniowych chromoforem docelowym jest oksyhemoglobina, z którą najskuteczniej koreluje widmo światła. Główne szczyty absorpcji światła przez hemoglobinę obejmują długości fal wynoszące 418 nm, 542 nm i 577 nm, a także pasmo o mniejszej szerokości absorpcji, wynoszące od 800 nm do 1100 nm. Obecnie do leczenia zmian naczyniowych stosowane są przede wszystkim generatory IPL, laser potasowo - tytanowo - fosforanowy (KTP) 532 nm, laser Nd:YAG 1064 nm [37, 90, 91]. Fale o większej długości mogą wnikać głębiej, wpływając na bardziej głęboko umiejscowione naczynia krwionośne, wiąże się to jednak ze zmniejszonym pochłanianiem energii laserowej przez oksyhemoglobinę [90, 92]. W związku z tym konieczne jest zastosowanie energii o większej gęstości w celu skompensowania obniżonej absorpcji. Tak więc w celu leczenia zmian naczyniowych głębokich laser Nd:YAG 1064 nm zapewnia uzyskanie dobrych wyników terapeutycznych. Natomiast naczynia skóry twarzy bardzo dobrze reagują na leczenie laserem KTP 532 nm [91, 92]. Z kolei systemy IPL emitujące niespójne, polichromatyczne światło przy zastosowaniu odpowiednich filtrów, najczęściej w zakresie 550 - 950 nm, 650 - 950 nm, wykazują skuteczność w leczeniu różnorodnych zmian naczyniowych,

jak: rumień, poikiloderma *Civatte'a*, powierzchowne naczyńki krwionośne oraz zmian o typie *port wine stain* [92, 93].

3.4.2. PRZEBARWIENIA

W terapii przebarwień i łagodnych zmian barwnikowych aplikuje się przede wszystkim laseroterapię, a celem promieniowania laserowego jest chromofor melaninowy, który pochłania energię w całym spektrum widzialnym 400 - 700 nm, z niższym współczynnikiem absorpcji pojawiającym się w zakresie podczerwieni - 1200 nm [37, 94].

Najbardziej skuteczną formą energii laserowej w usuwaniu zmian pigmentacyjnych jest zastosowanie dużej mocy wiązki światła w bardzo krótkim czasie trwania impulsu, celem wytworzenia fali uderzeniowej i wywołania eksplozji cząstek chromoforu docelowego, co umożliwia jego rozdrobnienie i usunięcie następnie przez makrofagi w procesie fagocytozy. Dlatego, aby doszło do mechanicznego uszkodzenia melaniny stosuje się lasery typu Q - switch emitujące impulsy świetlne o wyjątkowo krótkim czasie wynoszącym nano, bądź piko sekundy [95, 96]. Dzięki takiej technologii istnieje dużo mniejsze ryzyko uszkodzenia otaczających struktur tkankowych, stosując koncepcję czasu relaksacji termicznej [97]. Stąd usuwanie przebarwień skórnych, jak: melasma skórna, podoczodołowe przebarwienia, znamiona Oty oraz Ito odbywa się przy udziale lasera Q - switch Nd:YAG 1064 nm, który wnika głęboko w skórę. Natomiast przebarwienia naskórkowe, jak: plamy soczewicowate, piegi, melanoderma naskórkowa, plamy *café au lait*, znamiona Beckera są usuwane technologią Q - switch KTP 532 nm, która jest zazwyczaj najbezpieczniejszą i najbardziej skuteczną z dostępnych opcji terapii płytkich przebarwień ze względu na powierzchowne działanie i wysokie powinowactwo do melaniny [95, 97, 98].

4. FALE WYSOKIEJ CZĘSTOTLIWOŚCI RADIOWEJ W PROCESACH STARZENIA

Fale radiowe - radiofrekwencja (*radiofrequency* - RF) odnoszą się do nomenklatury fizycznej, definiując niejonizujące promieniowanie elektromagnetyczne wytwarzane przez prąd zmienny o zakresie częstotliwości wynoszącym od 3 kHz do 300 GHz. Natomiast zakres częstotliwości wykorzystywanych w profilaktyce przeciwstarzeniowej najczęściej obejmuje przedział 0,5 - 40 MHz [99]. Radiofrekwencja stanowi nieablacyjną modalność terapeutyczną, która wyzwała selektywny i kontrolowany wzrost temperatury tkanek, tzw. diatermię. Terminologia ta wywodzi się od greckich słów: dia - przez, therme - gorąco [100, 101].

W przeciwieństwie do widma światła wytworzona energia w postaci fal radiowych nie podlega prawom optycznym, tym samym nie zostaje zmniejszona dyfrakcją, rozproszeniem i odbiciem. Wykazuje także niezależność od chromoforów i selektywnej fototermolizy, skutkiem czego nie zostaje konkurencyjnie absorbowana przez melaninę czy oksyhemoglobinę [101, 102]. Co więcej, laseroterapia oraz systemy intensywnego światła pulsacyjnego są zwykle związane z okresem rekonwalescencji, jak również ryzykiem powikłań w postaci bliznowacenia, zmian pigmentacyjnych, odbarwień, przewlekłego rumienia czy infekcji. Tego typu niepożądanych reakcji nie wyzwała częstotliwość radiowa w trybie nieablacyjnym. Dlatego sklasyfikowana jest jako skuteczna technologia odmładzania skóry o niskim profilu skutków ubocznych [99, 103].

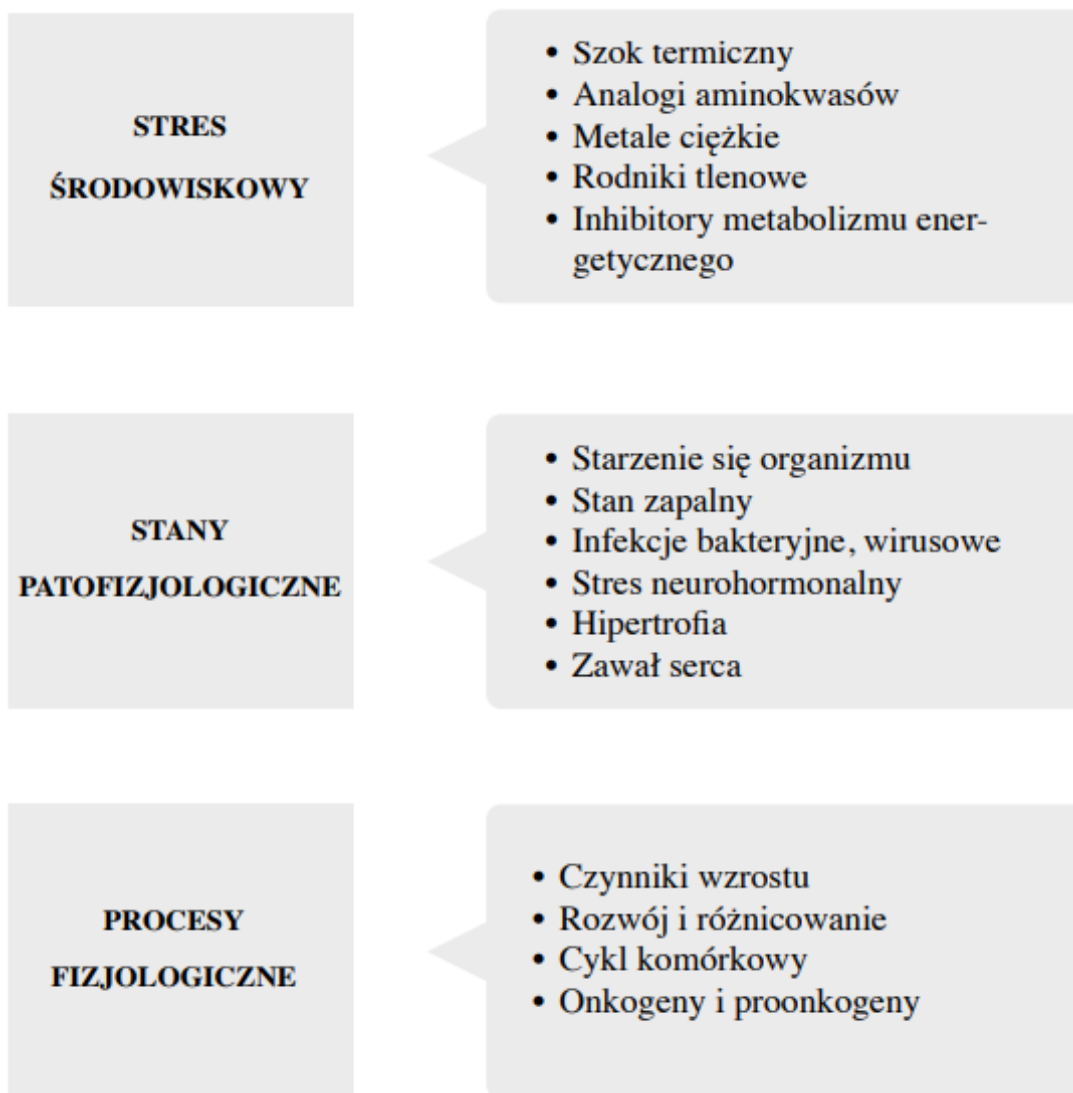
4.1. EFEKTY ODDZIAŁYWANIA WYSOKIEJ TEMPERATURY - BIAŁKA SZOKU TERMICZNEGO

Białka szoku cieplnego (*heat shock proteins* - HSP) należą do białek o najbardziej konserwatywnej sekwencji aminokwasów w procesie ewolucji. Odgrywają zasadniczą i złożoną rolę we wszystkich komórkach prokariotycznych i eukariotycznych, chroniąc je przed szkodliwymi konsekwencjami metabolicznymi i środowiskowymi [105 - 107]. Spełniają rolę czynników opiekuńczych dla innych białek, biorą udział w fałdowaniu i rozplataniu łańcuchów polipeptydowych, oligomeryzacji, translokacji oraz degradacji. Dzięki temu zapewniają właściwy proces formowania prawidłowej struktury białek, jak również biorą udział w renaturacji lub degradacji białek zdenaturowanych czy uszkodzonych.

HSP należą do kilku rodzin, gdzie zostały sklasyfikowane w zależności od ich masy cząsteczkowej, m.in: HSP100 (rodzina 100 - kDa), HSP90 (rodzina 90 - kDa), HSP70 (rodzina 70 - kDa), HSP60 (rodzina 60 - kDa) oraz HSP20 (18 - 30 kDa) [104].

Termiczna aktywacja białek szoku termicznego następuje nawet przy nieznacznym wzroście temperatury, ponieważ osiągnięcie nieprzerwanej temperatury przez co najmniej 3 minuty w zakresie 44 - 46 °C aktywuje ich syntezę oraz uwalnianie przez fibroblasty [105]. Następnie uruchamiają mechanizmy obronne skóry, aktywując syntezę kolagenu i elastyny, przyczyniając się do wzrostu gęstości i elastyczności skóry. Ponadto, białka HSP odgrywają zasadniczą rolę w procesach odmładzania również pełniąc właściwości ochronne wobec struktur włókien kolagenowych, uniemożliwiając denaturację, ale także reaktywując białka zdenaturowane (tab. nr 6) [106].

Tabela 6. Czynniki wpływające na ekspresję HSP [opracowanie na podstawie 104].



4.2. PODSTAWY FIZYCZNE ZABIEGU RADIOFREKWENCJI

W zabiegu radiofrekwencji generowany jest zmienny prąd elektryczny, wprowadzając w ruch zawarte w elektrolicie tkankowym jony, ujemne w stronę anody, dodatnie w stronę katody. W wyniku zmian biegunów elektrod dochodzi do polaryzacji jonowej. Na skutek polaryzacji, przesunięcia i ruchu w atomach elektrycznie naładowanych cząstek dochodzi do wytworzenia w tkance ciepła, w wyniku ich wzajemnego tarcia z otoczeniem. W ten sposób energia kinetyczna ulega konwersji do endogennej energii termicznej [63]. Według Abrahama i Mashkevivha, podczas cyklu terapii radiofrekwencją o częstotliwości 6 MHz polaryzacja zmienia się z prędkością 6 milionów cykli na sekundę, co stymuluje ruch naładowanych cząstek, wytwarzając prąd elektryczny w leczonej tkance poprzez przyciąganie i odpychanie elektronów oraz jonów [100].

Ilość wydzielanego w skórze ciepła w czasie przepływu prądu elektrycznego jest wprost proporcjonalna do iloczynu oporu elektrycznego przewodnika, kwadratu natężenia prądu i czasu jego przepływu [111]. Zależność tę można wyrazić wzorem matematycznym w postaci prawa *Joule'a*:

$$Q = I^2 R t, \quad [1]$$

gdzie:

Q - ilość wydzielonego ciepła,

I - natężenie prądu,

R - opór elektryczny,

t - czas działania bodźca.

Przepływ fal radiowych przez tkanki stanowi zatem złożony proces, który wykazuje zależność od dodatkowych czynników, jak:

- częstotliwości i natężenia prądu elektrycznego
- cech fizycznych docelowej tkanki, jak: zawartość elektrolitów, poziom uwodnienia, temperatura, pH, orientacja i koncentracja włókien kolagenowych
- dystrybucji prądu dostarczanego do skóry, zależnej od geometrii i rozmieszczenia elektrod [99, 109, 110].

Ponadto, głębokość penetracji fali radiowej stanowi odwrotną funkcję jej częstotliwości [100].

Ciekawą koncepcję termicznego rozkładu energii RF na tkankę przedstawił wraz zespołem Zelickson, gdzie implikacją ich badań było stwierdzenie, iż przejścia wielokrotne na tym samym obszarze zabiegowym przy zastosowaniu niższej mocy dawki powodują większą modyfikację termiczną włókien kolagenowych i stymulację fibroblastów, aniżeli jednokrotne przejście na wyższym poziomie energii [111, 116]. Notabene, unikanie bardzo wysokich ustawień energetycznych ma dodatkową zaletę, czyniąc terapię bardziej komfortową i zmniejszając prawdopodobieństwo potencjalnych powikłań [103]. Tezę tę potwierdza w swoich badaniach Dover i wsp, którzy zasugerowali, że dla optymalnego doboru energii dostarczanej do tkanek, prawidłową metodą jest obserwacja sprzężenia zwrotnego w postaci odczuwanego bólu, a osiągnięcie odpowiedniej temperatury końcowej oparte jest na wielu przejściach i umiarkowanych ustawieniach energii, zapewniając skuteczne i spójne rezultaty [99, 111].

Fizjologiczne oddziaływanie ciepła na żywe tkanki może wyzwać zmiany na poziomie tkanek powierzchniowych, jak i głębokich; na poziomie komórkowym, jak i systemowym. Dlatego łagodna postać hipertermii wykazuje działanie regresujące ból i stany zapalne, jak również akceleracji procesu gojenia [116]. Taka funkcjonalność radiofrekwencji wynika ze wzrostu przepływu krwi, absorpcji tlenu i przyspieszenia reakcji chemicznych. Terapeutycznie, wzrost temperatury tkanek o ponad 1 °C pomoże zredukować łagodny stan zapalny, a wzrost o 2 - 3 °C zapewni zmniejszenie bólu i skurczy mięśniowych, podczas gdy wzrost o 3 - 4 °C może spowodować rozszerzalność tkanek [109].

Zastosowanie radiofrekwencji w zabiegach odmładzających wykorzystuje z kolei transfer energii do skóry właściwej, indukujący zmiany konformacyjne kolagenu i stymulujący neokolagenezę, elastogenezę i angiogenezę [112]. Diatermia zwiększa także przepuszczalność błon komórkowych oraz przyspiesza przemianę materii, pobudzając mikrokrążenie i aktywację reakcji enzymatycznych [99, 113].

4.3. BIOFIZYKA TERMICZNEJ PRZEBUDOWY KOLAGENU

Kolagen jest polimerem, potrójną helisą stabilizowaną wiązaniami wodorowymi [114]. Kiedy następuje jego denaturacja pod wpływem działania termicznego, wewnątrzcząsteczkowe

wiązania wodorowe ulegają rozerwaniu, a włókna skróceniu, utrzymując termicznie wiązania krzyżowe między cząsteczkami. Dodatkowe skrócenie włókien następuje w wyniku hydrolizy wiązań peptydowych [115].

Temperatura, w której dochodzi do denaturacji kolagenu często określana jest w przedziale 55 - 70 °C [100, 114 - 119]. Stała szybkości tej opisana jest równaniem *Arrheniusa* wyrażonym w postaci:

$$k = Ae^{-Ea/RT} = Aexp(-Ea/RT), \quad [2]$$

gdzie:

k - jest stałą szybkości reakcji,

A - reprezentuje częstotliwość kolizji pomiędzy reagującymi cząsteczkami,

e = podstawa logarytmu naturalnego,

Ea- jest energią aktywacji dla tych reakcji,

R - jest stałą gazową,

T - stanowi temperaturę bezwzględną.

Zgodnie z tym równaniem denaturacja - skurcz kolagenu, odbywa się w różnych kombinacjach czasowo - temperaturowych, a nie w określonej temperaturze [122, 124]. Zatem nie istnieje idealna temperatura denaturacji, a wielkość skurczu zależna jest od zestawienia czasu i temperatury. Badania sugerują, że w przypadku ekspozycji milisekundowych skurcz kolagenu występuje powyżej 85 °C, podczas gdy w przypadku ekspozycji kilkusekundowych lub minutowych temperatura skurczu mieści się w zakresie 60 - 65 °C [125]. Natomiast istotnym jest, aby podczas procesu nagrzewania głębszych struktur skóry nie przekraczać temperatury naskórka w postaci 40 °C, celem ochrony przed poparzeniem. Można zatem zaimplementować pożądaną, optymalną kombinację temperatury oraz czasu, umożliwiając maksymalną ochronę naskórka przed przegrzaniem. Dover i wsp. dowiedli algorytm denaturacji kolagenu z udziałem radiofrekwencji, który określa, iż każdy leczony centymetr kwadratowy obejmuje 5 - 20% denaturowanej objętości kolagenu [103].

Indukowane termicznie uszkodzenie i skurcz kolagenu wyzwała kaskadę mechanizmów naprawczych w skórze. Dochodzi do uruchomienia białek HSP: HSP 70 - wysoce indukowalne białko, ulegające nadprodukcji przy gwałtownym wzroście temperatury; HSP 47 - białko konstytutywne, które wiąże i transportuje prokolagen, odgrywając rolę w syntezie kolagenu typu I oraz białko HSP 27 - białko konstytutywne,

które w przypadku nadekspresji chroni komórkę przed apoptozą w wyniku szoku cieplnego [104, 114].

W wyniku denaturacji kolagenu następuje uruchomienie procesu gojenia, na który składa się faza zapalenia, proliferacji i remodelingu (tabela nr 7). Z tej perspektywy kolagen typu III jest pierwszym białkiem, które podczas proliferacji odkłada się w celu regeneracji macierzy pozakomórkowej (ECM), a następnie jest zastępowane kolagenem typu I [120].

Po lokalnym urazie termicznym spowodowanym uwolnieniem energii cieplnej w skórze właściwej uwolnione zostają charakterystyczne dla fazy zapalnej czynniki wzrostu, jak m. in. TGF - alfa i beta, śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor* - VEGF), płytkowy czynnik wzrostu (*platelet-derived growth factor* - PDGF), które stymulują produkcję włókien kolagenowych i elastynowych, a także angiogenezę, aktywując kolejną sekwencję fazy gojenia rany - fazę ziarninowania [121, 126]. W procesie przebudowy występuje hemostaza, co oznacza, że wkrótce po zranieniu synteza przewyższa degradację, zatem poziom kolagenu w ranie wzrasta, następnie z udziałem MMP - kolagenazy i żelatynazy, dochodzi do degradacji nadmiernych ilości włókien kolagenowych. Kolejnym etapem przebudowy skóry jest faza dojrzewania, podczas której obecny w czasie proliferacji kolagen typu III, zostaje zastąpiony kolagenem typu I [129, 130]. W odniesieniu do termicznej stymulacji skóry z udziałem radiofrekwencji faza przebudowy może przebiegać w ciągu 90 - 180 dni, a nawet odbywać się do roku, korelując z postępującą poprawą kliniczną. Natomiast badania wykazały, iż aktywny remodeling skórny i podskórny jest obecny przez 10 tygodni po zabiegu, ze zwiększoną objętością przede wszystkim warstwy siateczkowatej i zawartością kwasu hialuronowego [121].

Tabela 7. Molekularne mechanizmy procesu gojenia. Interleukina 4, 10 (IL - 4, - 10), tkankowy inhibitor metaloproteazy (*tissue inhibitors of metalloproteinase* - TIMP), czynnik wzrostu hepatocytów (*hepatocyte growth factor* - HGF), czynnik wzrostu fibroblastów (*fibroblast growth factor* - FGF), czynnik wzrostu naskórka (*epidermal growth factor* - EGF), czynnik wzrostu keratynocytów (*keratinocyte growth factor* - KGF) [120].

FAZA GOJENIA			
	ZAPALENIE (1 - 3 dni)	PROLIFERACJA (2 tygodnie)	PRZEBUDOWA (do roku)
KOMÓRKI	Trombocyty Neutrofile Mastocyty Monocyty	Makrofagi Komórki progenitorowe Fibroblasty Keratynocyty	Makrofagi Fibroblasty
CZYNNIKI	PDGF, TGF-beta Peptydy p/bakteryjne Histamina IL-4, IL-10	TGF-beta, TGF-alfa TIMP, HGF FGF, EGF VEGF	TIMP PDGF TGF-beta FGF, KGF

4.4. HISTOLOGICZNE ZMIANY NASKÓRKA, SKÓRY WŁAŚCIWEJ I TKANKI PODSKÓRNEJ INDUKOWANE RADIOFREKWENCJĄ

Mechanizm termicznego oddziaływania radiofrekwencji na skórę w zabiegach anti - aging związany jest także z przebudową naskórka, która intensyfikuje się do kilku miesięcy po zabiegu. Następuje ogólna poprawa morfologiczna i architektoniczna tej warstwy skóry wraz ze wzrostem grubości warstwy ziarnistej, w której zwiększa się liczba i wielkość keratynocytów. El - Domyati w swoich badaniach dowiedli zwiększoną proliferację komórek naskórka oraz znaczny wzrost grubości pasma kolagenu, występującego na połączeniu skórno - naskórkowym w odstępie 3 miesięcy po 6 zabiegach radiofrekwencji [120]. Z kolei Louis i wsp. potwierdzili zwiększoną ekspresję kolagenu VII w procesach różnicowania się naskórka, indukowanych radiofrekwencją [43].

Fale o częstotliwości radiowej zwiększają także grubość skóry właściwej, wyzwalając nie tylko mechanizm neokolegenazy, ale indukując biosyntezę włókien elastynowych. Bardzo ważnym oddziaływaniem radiofrekwencji względem elastyny jest również zmniejszenie ilości patologicznie nagromadzonych złogów elastynowych pod naskórkiem, które kumulują się na skutek fotostarzenia, tzw. elastoza słoneczna [125, 135]. Tego typu mechanizm fal radiowych wynika z ich wpływu na tworzenie nowych włókien kolagenowych, które zastępują i zsuwają nieprawidłowo nagromadzoną elastynę, doprowadzając przy tym do jej reorganizacji. Taka modulacja symuluje również syntezę nowych włókien elastynowych o właściwej konstrukcji i lokalizacji, obejmującej warstwę brodawkowatą i siateczkowatą skóry

właściwej. W obszarze skóry właściwej radiofrekwencja także wyzwała zwiększoną produkcję mukopolisacharydów, w tym kwasu hialuronowego, jak również nowych naczyń krwionośnych w procesie neoangiogenezy [99, 120].

Bassichis i in. ujawnili dodatkowy, potencjalny mechanizm działania dla monopolarnego RF obejmujący tkankę tłuszczową, w której podskórne płaty tłuszczu są oddzielone przeplatającą się siecią włóknistych przegród na bazie kolagenu. Ponieważ energia RF zwykle podąża ścieżką najmniejszego oporu, włókniste przegrody są preferencyjnie podgrzewane, co powoduje skurcz włókien kolagenowych, a to stanowi klucz do późniejszej przebudowy tkanki podskórnej i zaciśnięcia skóry [125, 133, 137]. Wynika to z faktu, iż przewodnictwo elektryczne włókien kolagenowych jest znacznie wyższe niż przewodnictwo elektryczne trójglicerydów, wypełniających adipocyty i zajmujących główną objętość tkanki podskórnej [138]. W związku z powyższym różnica przewodności elektrycznej umożliwia bardziej selektywną reakcję termiczną z kolagenem zawartym w przegrodach włóknistych oraz cienką siatką włókien kolagenowych zlokalizowaną wokół - zwłóknienie okołokomórkowe lub pomiędzy - zwłóknienie międzykomórkowe, pojedynczymi adipocytami. Dlatego radiofrekwencja wykazuje wystarczająco wysokie gęstości prądu w kolagenowych strukturach tkanki podskórnej, mimo iż głównym jej odbiorcą w zabiegach anty - aging jest skóra właściwa, a jej fizyczne i biologiczne cechy umożliwiają ten trójwymiarowy mechanizm napinania skóry [114, 118, 120, 122]. Radiofrekwencja wykazuje również właściwości lipolityczne względem tkanki tłuszczowej w związku z termiczną aktywacją enzymu - lipazy trójglicerydowej, jak również termicznym uszkodzeniem komórek tłuszczowych [99]. Wytworzone ciepło indukuje rozrywanie wewnątrz adipocytów wiązań pomiędzy szkieletem glicerolu a kwasami tłuszczowymi [134]. Diatermia wyzwała także uszkodzenie błon komórkowych adipocytów, co w swoich badaniach potwierdzają Biosnic i Branchet - w badaniu histologicznym tkanki podskórnej poddanej działaniu tripolarnej fali radiowej stwierdziły obecność komórek tłuszczowych o nieregularnych kształtach, z częściowo uszkodzoną błoną komórkową oraz zmiany martwicze na niewielkim obszarze. Dodatkowo potwierdziły około 120% wzrost lipolizy [123].

Ważnym aspektem interakcji tkanki z radiofrekwencją jest również fakt jej termicznego oddziaływania na naczynia włosniczkowe, powodując ich rozszerzenie, a tym samym poprawę odżywienia i dotlenienia skóry oraz usunięcie zbędnych i szkodliwych produktów przemiany materii [99].

4.5. KLASYFIKACJA RADIOFREKWENCJI

Zabieg radiofrekwencji może być przeprowadzony na wiele sposobów w zależności od zastosowanej techniki.

4.5.1. RADIOFREKWENCJA MONOPOLARNA

Technika jednobiegunowa (monopolarna) opiera się na dwóch elektrodach: biernej - zamykającej obwód elektryczny oraz czynnej (mniejszej wielkości), która umożliwia uzyskanie odpowiedniego efektu termicznego [140]. W systemach monopolarnych prąd dostarczany jest przez pojedynczy punkt styku z towarzyszącą elektrodą uziemiającą, która służy jako ścieżka niskiej rezystancji dla przepływu prądu w celu uzupełnienia obwodu elektrycznego. Z tego powodu następuje większa koncentracja energii w pobliżu punktu przylegania elektrody czynnej, a jej wartość gwałtownie maleje w kierunku elektrody biernej. Zatem głębokość i obszar nagrzania oraz wysoka gęstość mocy w tej metodzie umożliwia pracę w głębszych warstwach skóry właściwej, jak i tkance podskórnej [99, 107, 124, 125].

4.5.2. RADIOFREKWENCJA BIPOLARNA

W technice bipolarnej stosuje się dwie elektrody czynne, które są umieszczone blisko siebie w jednym aplikatorze. Takie rozmieszczenie elektrod znacznie ogranicza głębokość penetracji, która uzależniona jest od odległości między elektrodami i stanowi około połowę odległości pomiędzy nimi [99, 126]. W związku z powyższym, ciepło wytwarzane jest w małych ilościach i płytko usytuowanych warstwach skóry [107]. Tym samym, mechanizm bipolarny nie umożliwia wygenerowanie równomiernego ogrzewania pojemnościowego, porównywalnego z diatermią monopolarną i służy przede wszystkim do pracy ze skórą właściwą na ograniczonych głębokościach [127].

4.5.3. RADIOFREKWENCJA TRIPOLARNA/MULTIPOLARNA

Radiofrekwencja tripolarna/multipolarna charakteryzuje się układem zawierającym przynajmniej 3 elektrody w jednej głowicy, z czego jedna pełni rolę elektrody dodatniej, pozostałe są ujemne. Stanowią kombinacje elektrod mono - i bipolarnych, umożliwiając opracowanie powierzchniowych i średniogłębokich struktur skóry [128, 129].

4.5.4. RADIOFREKWENCJA UNIPOLARNA

W technice unipolarnej zabieg przeprowadza się za pomocą jednej elektrody, bez płytki uziemiającej, która emituje pole elektromagnetyczne penetrujące wielokierunkowo tkankę. Metoda ta umożliwia uzyskanie większej ilości ciepła w tkankach głębiej położonych, stąd jej główne zastosowanie to konturowanie niedoskonałości struktur tkankowych ciała [99, 130].

4.5.5. RADIOFREKWENCJA MIKROIGŁOWA

Radiofrekwencja mikroigłowa, definiowana również jako RF frakcyjny, stanowi synergii dwóch mocnych bodźców w postaci mikrouszkodzeń oraz intensywnej modyfikacji termicznej opartej na działaniu radiofrekwencji. Ta technologia wykorzystuje ten sam prąd, co w fali radiowej kontaktowej, jednakże decydująca różnica polega na przeniesieniu jego działania w głąb skóry. Nakładka frakcyjna wyposażona jest w kilkadziesiąt igieł o długościach w przekroju 0,25 mm - 3,5 mm, które stanowią jednocześnie elektrody, pomiędzy którymi przepływa prąd [149, 150, 151]. To sprawia, iż taka forma nagrzewania tkanki nie obciąża termicznie naskórka, a największy przepływ prądu obejmuje głębsze warstwy skóry właściwej. Igły mogą być zarówno izolowane na całej długości, jak i nieizolowane. W pierwszym przypadku prąd przepływa jedynie pomiędzy ich końcówkami, w drugim natomiast skóra nagrzewana jest na całej długości igieł, a najsilniej na ich zakończeniach [131 - 137].

4.6. KLINICZNE PRZEZNACZENIE DIATERMII

Zmiany histologiczne, biochemiczne i kliniczne zachodzące w przebiegu radiofrekwencji wykazują ogromną złożoność i różnorodność, umożliwiając wszechstronne zastosowanie w medycynie [118]. Dlatego też energia o częstotliwości radiowej z powodzeniem wykorzystywana jest w postaci elektrokoagulacji i ablacji tkanek w chirurgii ogólnej, kardiologii, neurologii, okulistyce, ortopedii czy dermatologii, stwarzając tym samym możliwości eradykacji wielu nieprawidłowości i jednostek chorobowych [107, 137]. Ponadto, RF wykazuje także działanie łagodzące postać bólu - wywołując rewaskularyzację tkanek, jak również właściwości przeciwzapalne oraz poprawiające rozciągliwość tkanek [109].

Radiofrekwencja zapewnia też szerokie spektrum zabiegów przeciwstarzeniowych, umożliwiając zróżnicowaną stymulację skóry i wykorzystując jej biofizyczny potencjał, co więcej wykazuje także właściwości redukujące tkankę podskórną [99].

4.6.1. GĘSTOŚĆ, NAPIĘCIE, FAKTURA SKÓRY, ZMARSZCZKI

Wielokierunkowe oddziaływanie radiofrekwencji w zabiegach anti - aging zapewnia silną regenerację i odnowę skóry, wywołując jej globalną modyfikację. Termiczna konformacja kolagenu, synteza nowych włókien białkowych i glikozaminoglikanów zapewnia wygładzenie i pogrubienie skóry, redukcję zmarszczek, wzrost jej elastyczności oraz nawilżenia [157]. W swoich badaniach skuteczność radiofrekwencji w zabiegach przeciwstarzeniowych podkreśla Kushikata wraz ze wsp., gdzie wykazuje widoczną poprawę w obszarze policzków, linii marionetek i bruzd nosowo - wargowych po jednym zabiegu [107]. Z kolei w badaniu przeprowadzonym przez El - Domyati i wsp. dokonano oceny ilościowej kolagenu po leczeniu RF, w wyniku której odnotowano zwiększenie ilości kolagenu typu I oraz III, co przełożyło się na zmniejszenie zmarszczek, szczególnie pod oczami [156]. Stymulację syntezy kolagenu indukowaną radiofrekwencją potwierdzili także Abraham i wsp. zgłaszając poprawę wiotkości skóry, redukcję zmarszczek i zwężenie mieszków włosowych [138]. Kliniczną poprawę faktury skóry, wynoszącą ponad 40% udowodnił z kolei Hruz i wsp. - w badaniach zastosowano frakcję mikroigłową i wykazano istotną statystycznie poprawę zarówno stopnia szorstkości skóry, jak i histologiczną ocenę zwiększonej ilości prokolagenu - 1 [139]. Zelockson i wsp. wykazali dodatkowo zwiększoną ekspresję informacyjnego RNA dla kolagenu typu I po zastosowaniu RF na skórze brzucha [160]. Natomiast Kaplan i Gat udokumentowali indukcję syntezy nowego kolagenu poprzez zidentyfikowanie ogniskowych zgrubień włókien kolagenowych w biopsjach

skóry przeprowadzonych po terapii RF [161]. Ponadto, skuteczność radiofrekwencji udokumentował Alvarez i wsp., przeprowadzając badanie na świnkach morskich, w których potwierdzono, iż zastosowanie częstotliwości radiowej na skórze przyczyniło się do znaczącego wzrostu aktywności komórkowej skóry i akumulacji substancji międzykomórkowej. Zaobserwowano również wzrost ilościowy i jakościowy włókien kolagenowych, elastynowych i mukopolisacharydów [140].

Znaczące porównanie technologii radiofrekwencji mikroigłowej z liftingiem chirurgicznym przeprowadził Alexiades - Armenakas oceniając skuteczność mikronakłuwania RF względem zwiócenia skóry twarzy oraz szyi, w której odnotował 16 procentową poprawę u 15 pacjentek w porównaniu z 49 procentową poprawą u pacjentów poddanych chirurgii [141]. Podobną analizę kliniczną przeprowadził Seo i wsp., porównując poprawę rozluźnienia tkanek miękkich twarzy z udziałem RF frakcyjnego oraz chirurgicznego liftingu. Badania wykazały 49 % poprawę zwiócenia skóry dla liftingu chirurgicznego, zaś poprawę w zakresie 16% wobec frakcji mikroigłowej [142].

4.6.2. RUMIEŃ, PRZEBARWIENIA

Redukcja rumienia z udziałem radiofrekwencji wynika przede wszystkim z pogrubienia skóry w procesach neokolegenezy. Największą skuteczność w zakresie zmniejszenia teleangoektazji i nadreaktywności naczyńowej wykazuje radiofrekwencja mikroigłowa - z uwagi na formę emisji energii, która odbywa się poprzez mikroigły. W ten sposób, oprócz procesów odmładzania i remodelingu, następuje elektrokoagulacja rozszerzonych i popękanych naczynek [155, 161]. Dodatkowo, radiofrekwencja zapewnia widoczne rozjaśnienie skóry, które odbywa się poprzez pobudzenie krążenia naczynek włosniczkowych, co umożliwia wzrost jej odżywienia i dotlenienia, jak również bardziej skuteczną eliminację toksyn w niej zawartych [143 - 148].

Przebarwienia to także ta grupa niedoskonałości skórnych, do których jest adresowana technologia frakcyjnej fali radiowej. Nagrzewanie, szczególnie głębokich warstw skóry właściwej, degradowuje melaninę skórną, zaś system mikronakłuć umożliwia mechaniczną redukcję hiperpigmentacji w procesach wzmożonego złuszczenia. Kim i wsp. udowodnili, że po zastosowaniu RF frakcyjnego nastąpiła redukcja zarówno melaniny, jak i rumienia [164, 166]. Zmniejszoną pigmentację z udziałem radiofrekwencji mikroigłowej wykazał również w swoich badaniach Park wraz z zespołem. Także sama postać radiofrekwencji,

bez mechanizmu mikronakłuć, została klinicznie udowodniona jako metoda redukująca hiperpigmentację, co udowodnili w swoich badaniach Tobin i Paus czy Choi wraz z współpracownikami [149].

4.6.3. TRĄDZIK POSPOLITY, ROZSZERZONE MIESZKI WŁOSOWE, BLIZNY

POZAPALNE

Fale o częstotliwościach radiowych wykazują także potwierdzoną klinicznie skuteczność w odniesieniu do zmian trądzikowych i nadreaktywności gruczołów łojowych. Wynika to z nieablacyjnego podgrzania wody w strukturach skóry właściwej, co powoduje zmniejszenie nadmiernej keratynizacji ujścia gruczołów łojowych oraz ich obkurczenie, jak i redukcję ilości trójglicerydów w nich zawartych, ograniczając tym samym nadmierny łojotok [107, 150, 151, 152]. Co więcej, RF umożliwia termiczną degradację bakterii beztlenowych odpowiedzialnych za trądzik, szczególnie w odniesieniu do *Cuticobacterium acnes* (dawniej *Propionibacterium acnes*) [167]. Ponadto, fala radiowa w skuteczny sposób zwęża mieszki włosowe. W badaniach klinicznych opartych na modelu ucha królika indukowanego szczepami *Cuticobacterium acnes*, Seok wraz z zespołem wykazali skuteczność leczenia częstotliwościami radiowymi trądziku pospolitego. Barwienie immunologiczne wykazało zmniejszenie poziomu ekspresji czynnika TNF - alfa w leczonym radiofrekwencją obszarze w porównaniu z grupą kontrolną. To bardzo ważne doniesienie, ponieważ obniżenie poziomu TNF - alfa jest najbardziej prawdopodobnym celem terapeutycznym dla radiofrekwencji i odgrywa ogromne znaczenie przeciwzapalne. TNF - alfa stanowi bowiem mediator dla głównej cytokiny zapalnej IL - 1beta, zwiększając jej ekspresję, która sprzyja silnym naciekom zapalnym gruczołów łojowych [168].

Radiofrekwencja, zwłaszcza w opcji mikroigłowej, umożliwia również bardzo skuteczną redukcję atroficznych blizn potrądzikowych czy zapalnych. Mikrouszkodzenia przeprowadzone na odpowiednich głębokościach w połączeniu z głęboką diatermią aktywują molekularną kaskadę procesu gojenia, która doskonale przebudowuje skórę, rozjaśnia i wypełnia ubytki syntezą prawidłowych włókien białkowych. Simmons i wsp. postulują, iż po czterech sesjach radiofrekwencji mikroigłowej można oczekiwać poprawy o 25 - 75% przy zastosowaniu jednego do dwóch przejść w jednym zabiegu [108]. Z kolei Gold i Biron leczyli pacjentów z 3 sesjami Rf frakcyjnego i zaobserwowali 60% poprawę blizn potrądzikowych, zaś Cho i współpracownicy zastosowali mikronakłuwanie z falą radiową

w leczeniu 30 pacjentów z 2 sesjami i stwierdzili 73% poprawę [153]. W innym badaniu Suh wraz z zespołem dokonali analizy histologicznej obszaru leczonego radiofrekwencją mikroigłową w zakresie zmian trądzikowych oraz blizn zanikowych. Udowodniono zwiększoną ilość włókien kolagenowych poprzez wyraźny wzrost TGF - beta. Uderzającym aspektem powyższych badań jest również fakt, iż nastąpiła zmniejszona modulacja markerów stanu zapalnego w postaci czynnika jądrowego kB oraz IL - 8, co korzystnie wyciszyło zapalną postać trądzika, jak i pozapalny rumień. Dodatkowo odnotowano zmniejszenie wydzielania sebum [133].

4.6.4. TKANKA PODSKÓRNA

Fala radiowa wykazuje termiczne oddziaływanie również w zakresie adipocytów, które pod wpływem wysokich temperatur zostają uszkodzone i redukowane. Ponadto, diatermia indukując hydrolizę trójglicerydów do glicerolu i kwasów tłuszczowych, wykazuje właściwości lipolityczne. Mechanizm działania radiofrekwencji obejmuje także zwiększoną perfuzję tkanek i mobilizację drenażu limfatycznego, co usprawnia metabolizm tkankowy i usunięcie szkodliwych i zbędnych produktów przemiany materii [154, 155, 157 - 160]. Dodatkowym zakresem zastosowania RF w obszarze adipocytów jest oddziaływanie na struktury anatomiczne włókien kolagenowych zawartych w przegrodach włóknistych, jak i między adipocytami. Ten mechanizm remodeluje kolagen, zwiększając ilość, jak i jakość włókien kolagenowych. Dzięki tym procesom dochodzi do redukcji objętości tkanki tłuszczowej, jak również jej zagęszczenia. Największa głębokość penetracji, a tym samym najwyższą skuteczność w zabiegach modelujących sylwetkę, wykazuje radiofrekwencja monopolarna i unipolarna [142, 148]. Theodoru i wsp. [164] wykazali u 40 respondentów skuteczność radiofrekwencji w zmniejszeniu obwodu tkanki tłuszczowej po jednym zabiegu, zaś Rousseaux i wsp. [105] udowodnili redukcję tkanki tłuszczowej po 5 sesjach średnio do 40 - 50% po zastosowaniu radiofrekwencji multipolarnej wyposażonej w 6 elektrod [105, 163-168].

5. ELEKTROPORACJA

Metoda elektroporacji została wynaleziona w 1970 roku przez Eberharda Neumanna choć pojęcie elektroporacji względem przenikania impulsów elektrycznych przez błony komórkowe zostało pierwotnie wprowadzone jako alternatywa dla odwracalnego rozkładu dielektrycznego - Staempfli, 1958 rok. W kontekście historycznym zaś koncepcja elektroporacji i technika impulsu elektrycznego zakorzenia się w dyscyplinie kinetycznej w postaci elektrochemicznej spektrometrii impedancyjnej założonej przez Manfreda Eigen'a w Gottingen w 1963 roku [169 - 173].

5.1. WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE BARIERY SKÓRNEJ W PROCESIE ELEKTROPORACJI

Zdrowa tkanka skóry wykazuje zarówno oporność elektryczną, jak i właściwości pojemnościowe [174].

Najbardziej zewnętrzną warstwą skóry, warstwą rogową naskórka, jest główną barykadą penetracji leków i substancji aktywnych. Składa się z 15 - 20 warstw korneocytów wypełnionych macierzą usieciowanych włókien keratynowych, naładowanych w warunkach fizjologicznych ujemnie, nadających mechaniczne właściwości naskórka i stanowiących nieprzepuszczalną barierę [175]. Dlatego funkcja bariery skórnej jest głównie determinowana przez heterogeniczną matrycę lipidową. W jej obrębie wielowarstwowy układ lipidowy, zawierający prawie 300 rodzajów ceramidów, wolne kwasy tłuszczowe, trójglicerydy, cholesterol, siarczan cholesterolu i estry sterolu, stanowi najważniejszą barierę wnikania i transportu molekularnego [176 , 177]. Dodatkowo laminki lipidowe łączą się w dwuwarstwę lipidową, tworząc spójny układ wraz z łańcuchami węglowodorowymi. W związku z powyższym, matryca lipidowa skóry obejmuje bardzo złożoną strukturę, a skład lipidowy ma znaczący wpływ na jej właściwości i funkcje [175]. Cholesterol obecny w błonach komórkowych zwiększa upakowanie i uporządkowanie lipidów w hydrofobowej części membrany, zmniejszając przy tym jej przepuszczalność, a tym samym podatność na elektroporację. Ponadto, jego specyficzna budowa, jaką stanowią sztywne pierścienie i mała grupa hydrofilowa, determinuje umiejscowienie cholesterolu w dwuwarstwie, przyczyniając się do zmniejszania średnicy porów uzyskiwanych przy udziale krótkich impulsów prądu

wysokonapięciowego. W świetle postępów naukowych wykazano także, iż zawartość utlenionego cholesterolu w membranach w znaczący sposób zwiększa odporność błon komórkowych na mechanizm elektroporacji [178].

Ostatnio również udowodniono, że krytycznymi czynnikami warunkującymi funkcję bariery naskórkowej są szczelne połączenia naskórkowe (*epidermal tight junction* - TJ) i ich liczne białka, w tym zonulina - 1 (zonula occludens - 1 – ZO - 1), okludyny, a w szczególności klaudyny [179].

W samej komórce zaś, jak i w obrębie substancji międzykomórkowej znajdują się jony, których rolą jest regulacja funkcji komórkowych. Wymiana między jonami odbywa się za pomocą specjalnych kanałów znajdujących się w błonie komórkowej, stąd istnieje różnica potencjałów w jej obrębie. Błona komórkowa wykazuje zatem pewną rezystancję prądu elektrycznego, która pozostaje stała przy różnicy potencjałów między dwiema stronami membrany. Tak więc dla membrany zachowane jest prawo *Ohma* [172]:

$$I = U/R, \quad [3]$$

gdzie:

I - natężenie prądu,

R - opór elektryczny,

U - różnica potencjałów.

Stąd komórki mają własny potencjał elektryczny, a oporność warstwy rogowej wynosi od 5 do 25 k Ω /cm², zaś napięcie przebicia sięga wartości rzędu 75 - 100 V [179].

5.2. EFEKTY BIOLOGICZNE INDUKOWANE ELEKTROPORACJĄ, ZNACZENIE TERAPEUTYCZNE

Amplituda impulsu oraz liczba, kształt, czas trwania, jak i odstępy pomiędzy kolejnymi impulsami, a także odległości pomiędzy elektrodami - to zasadnicze czynniki determinujące elektroporację [179, 180, 181].

Zjawisko elektroporacji opiera się na biofizyce funkcjonowania membran i polega na wygenerowaniu przestrzeni w hydrofilowych błonach komórkowych poprzez oddziaływanie pola elektromagnetycznego rzędu kilkuset V/cm. Krótkie impulsy elektryczne o wysokim

napięciu powodują dezorganizację lipidów i powstanie kanałów jonowych w strukturach błony komórkowej, zwanych elektroforami. W ten sposób zaburzona zostaje stabilność komórkowa błony, co umożliwia przenikanie molekuł z przestrzeni międzykomórkowej do wnętrza komórki, które w warunkach stabilnych ze względu na swój rozmiar, jak i właściwości fizykochemiczne wykazują słabą penetrację do cytozolu [175, 182, 183]. Jako że warstwa rogowa składa się z około 100 membran dwuwarstwowych połączonych szeregowo, aby chwilowo uzyskać wzrost jej przepuszczalności, zewnętrzne pole elektryczne jest stosowane w kategoriach i osiąga napięcia o wartościach 30 - 100 V. Zatem skuteczne napięcie przezbłonowe dla każdej dwuwarstwy odpowiada przedziałowi 0,3 - 1,0 V [175]. Elektroporacja będąc zatem metodą promującą efektywne przenikanie makrocząsteczek, zwiększa przepuszczalność komórek nawet 400 razy, umożliwiając absorpcję około 90 - 100% substancji czynnych [172].

Powstałe elektropory, ze względu na rozmiar zwane także nanoporami, wykazują niestabilność, powstają w bardzo krótkim czasie μs - ms i znikają od kilku sekund do kilkunastu minut po zaprzestaniu emisji impulsowego napięcia - elektroporacja odwracalna. Istnieje również możliwość trwale zdestabilizować błony komórkowe celem wygenerowania apoptozy komórkowej - elektroporacja nieodwracalna [175, 183]. Z tego powodu odpowiednie parametry pola elektrycznego dobierane są do konkretnych linii komórkowych i efektu, jaki ma zostać uzyskany. Średnicę elektroporów szacuje się zwykle w zakresie 1 - 10 nm [179, 184]. Jednakże w swoich badaniach Gupta i Rai postulują również o większych rozmiarach porów, gdzie elektroporacja umożliwia indukcję porów o średnicy nanometrycznej do nawet mikroporów w dwuwarstwie lipidowej, a ich wielkość zwiększa się wraz ze wzrostem podtrzymującego pola elektrycznego [175]. Podkreślają tę tezę także inni badacze wnioskując, iż istnieją różne reakcje zgodnie z dwoma podstawowymi trybami pulsacji: krótkotrwałe impulsy wysokiego napięcia generują mniejsze pory, podczas gdy długotrwałe niższe napięcie impulsów powoduje, że regiony o zwiększonej przepuszczalności są stosunkowo większe [179]. Warto wyszczególnić, że progowa wartość natężenia pola elektrycznego w celu wygenerowania elektroporów jest mniejsza dla małych jonów elektrolitów, niż wartość progowa dla większych makrocząsteczek [173].

W procesie elektroporacji warstwa rogowa skóry podlega elektrycznej modyfikacji, co prowadzi do zwiększenia mobilności elektroforetycznej, dyfuzyjności molekularnej i przewodnictwa elektrycznego. Natomiast zastosowanie różnicy potencjałów w obrębie błony komórkowej jest skuteczną strategią tworzenia przejściowych, porowatych kanałów. Błony komórkowe wówczas pełnią rolę kondensatorów elektrycznych, a zastosowanie pola

elektrycznego o wysokim napięciu powoduje czasową depolaryzację błony komórkowej i formację porów, co umożliwia dostarczenie molekuł [180, 181, 185, 189]. Wykazano także, że transport molekularny i jonowy przez skórę narażoną na szereg impulsów wysokonapięciowych jest silnie zlokalizowany w miejscach nazywanych rejonami transportu lokalnego. Wielkość ich zależy od skumulowanego czasu trwania impulsu, natomiast amplituda impulsu dyktuje ich gęstość [179].

Zjawisko elektroporacji wykazuje też istotną korelację z impedancją skóry, która obejmuje zmiany zdeterminowane czynnikami zewnętrznymi, a o jej wartości decyduje w dużej mierze zrogowaciały naskórek - grubsza warstwa rogowa skóry wykazuje większą impedancję. Bogate natomiast w elektrolity środowisko wewnątrz organizmu posiada bardzo małą rezystancję w porównaniu z impedancją skóry [187, 188, 189]. Zhao i wsp. w swoich badaniach udowadniają, że elektroporacja zmniejsza impedancję skóry bardziej niż odwrócona jonoforeza, a to z kolei poprawia penetrację skóry. Dodatkowo postulują, iż wzrost natężenia prądu powyżej $300 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ może zwiększyć podatność skóry na uszkodzenia. Tak więc optymalnym stanem elektroporacji na ciele człowieka jest natężenie prądu poniżej $40 \text{ mA}/\text{cm}^2$ z szerokością impulsu poniżej 10 ms [188].

Warto podkreślić, iż elektroporacja wynika z różnych mechanizmów zachodzących w różnym czasie. Zwiększona dyfuzja w trakcie i po impulsach, elektrycznie napędzany transport podczas impulsów w postaci elektroforezy oraz w minimalnym zakresie elektroosmozy, to główne mechanizmy transportu. Jednakże podczas impulsów wysokiego napięcia główną siłą napędową dla transportu naładowanych cząsteczek jest ruch elektroforetyczny [179].

5.3. KLINICZNE ZASTOSOWANIE ELEKTROPORACJI

Utworzenie alternatywnej drogi wymiany molekularnej pomiędzy wnętrzem komórki a jej otoczeniem znajduje zastosowanie na wielu płaszczyznach, nie tylko biologii komórkowej i biotechnologii, ale także w nowych dyscyplinach medycznych [173]. Elektroporacja stanowi interwencję na poziomie komórkowym, ukierunkowaną na błony biologiczne bez wpływu na architekturę macierzy pozakomórkowej, co czyni tę metodę wszechstronnie terapeutyczną i leczniczą [174, 190].

5.3.1. ELEKTROCHEMIOTERAPIA

W technologii tej impulsy elektryczne pełnią rolę nośnika farmaceutyków do wnętrza komórek objętych procesem nowotworowym, stanowiąc skuteczną terapię przeciwnowotworową. Tego typu leczenie wykazuje satysfakcjonujące rezultaty i korzyści, umożliwiając zmniejszenie stężenia cytostatyków odpowiedzialnych za wiele toksycznych działań niepożądanych [183]. Dlatego aplikacja cytotoksycznych leków w synergii z elektroporacją umożliwia wygenerowanie dodatkowej drogi ich transportu, zwiększając szybkość i skuteczność terapii. Ważnym również jest fakt, iż leczenie elektroporacją zmniejsza perfuzję w naczyniach krwionośnych otaczających nowotwór, a to z kolei przedłuża kontakt leku z nowotworem. Co więcej, połączenie elektroporacji z chemioterapią ogranicza potrzebę interwencji chirurgicznej [183, 184].

5.3.2. TERAPIA GENOWA

Elektrogenoterapia, zwana terapią genową stanowi obiecujące narzędzie do walki z jednostkami chorobowymi o podłożu genetycznym [172, 191]. Opiera się na mechanizmie wprowadzenia materiału genetycznego do objętych dysfunkcją komórek ustroju poprzez generowanie zjawiskiem elektroporacji dodatkowych kanałów błonowych. Dotychczas transfer komórkowy dużych cząsteczek, jak DNA i RNA był realizowany przy użyciu nośników, w tym wirusowych [172, 173, 180, 182, 192]. Ze względu na wybiórcze oddziaływanie elektroporacji, wyznaczone zakresem elektrod, metoda ta wykazuje znacznie większą wydajność przy bardzo niskiej odpowiedzi immunologicznej, w przeciwieństwie do metody opartej na wektorach wirusowych [172, 192].

Dostarczanie makrocząsteczek do komórek zachodzi po przekroczeniu progowej wartości potencjału błony. Pory w błonie komórkowej pozostają otwarte przez około 30 sekund, stanowiąc wystarczający wymiar czasu względem penetracji komórki [172, 182]. Historycznie, już pierwsze dane o genetycznym znaczeniu elektroporacji przedstawili Wang i Neumann w 1982 roku wykazując charakterystyczną zależność natężenia pola, impulsów napięciowych i liczby kolonii komórkowych pochodzących z elektrycznie modyfikowanych komórek aplikacją DNA [173, 181].

5.3.3. SKÓRNE I PRZEZSKÓRNE DOSTARCZANIE MAKROMOLEKUŁ ISTOTNYCH FARMACEUTYCZNIE

Innym medycznym zastosowaniem elektroporacji jest wprowadzanie leków przez skórę [172]. Skóra oferuje atrakcyjny sposób - skórny i przezskórny, dostarczania leków charakteryzujących się wysoką lipofilnością, pewną polaryzacją i maksymalną masą cząsteczkową rzędu 1 kDa. Wydajność tego procesu, oprócz właściwości fizyko - chemicznych samego leku, może być wzmocniona i determinowana parametrami impulsu elektroporacyjnego w postaci amplitudy, częstotliwości, czasu trwania oraz kształtu impulsu [178, 189, 193]. W użyciu klinicznym taka forma leczenia występuje od 1981 roku, stanowiąc alternatywę leczenia doustnego - omijając przy tym przewód pokarmowy oraz iniekcyjnego - eliminując dyskomfort bólowy nakłuć. Potwierdzili to Escobar - Chavez i wsp. definiując elektroporację jako fizyczny wzmacniacz dostarczania leków (do co najmniej 40 kDa). Również Lombry i wsp. udowodnili, iż elektroporacja dostarcza większą koncentrację makromolekuł, uzupełniając tradycyjną aplikację cytostatyków [178, 182, 189].

5.3.4. ZASTOSOWANIE ELEKTROPORACJI W KOSMETOLOGII

Metodologia elektroporacji wykorzystywana jest także w nieinwazyjnej metodzie, nazywanej mezoterapią bezigłową. Zastosowanie odpowiednich potencjałów elektrycznych inicjuje lokalną restrukturyzację struktury lipidowej, generując kanały jonowe, które umożliwiają przenikanie substancji biologicznie aktywnych, jak witaminy, aminokwasy, biopierwiastki i inne składniki odżywcze do głębszych warstw skóry. Po zabiegu, czyli zakończeniu emisji napięcia elektrycznego, powstałe kanały zanikają, odtwarzając integralną oraz ciągłą strukturę błony. Pozwala to wyeliminować skutki niepożądane w zakresie mezoterapii igłowej [172]. Elektroporacja jest wykorzystywana w terapii trądziku pospolitego oraz blizn, w redukcji cellulitu, jak również w zabiegach przeciwstarzeniowych, zwiększając elastyczność skóry i redukując zmarszczki, jak również zwiększając jej profil wodny [172, 194].

6. INSTRUMENTALNE METODY POMIARU WŁAŚCIWOŚCI BIOFIZYCZNYCH SKÓRY

Badania aparaturowe skóry znalazły szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach nauk medycznych oraz kosmetologii z uwagi na ograniczenia oceny zmysłowej/wizualnej. Nieustający postęp w badaniach zaciera granicę pomiędzy poszczególnymi dziedzinami nauki, co stanowi o jej coraz większej interdyscyplinarności. Bez wykorzystania wiedzy na temat biofizycznych metod pomiarowych stosowanych w medycynie i kosmetologii, nie jest możliwy rozwój w perspektywie badań na poziomie molekularnym [195, 196].

Najczęściej diagnozuje się właściwości biofizyczne skóry w zakresie uwodnienia - nawilżenia, TEWL, elastyczności, pH, barwy czy grubości i struktury poszczególnych warstw skóry. Tego typu pomiary stanowią użyteczne narzędzie diagnostyczne i monitorujące zróżnicowane dermatozy, jak i towarzyszące im zjawiska patologiczne [195, 197]. Służą również do wykrywania zaburzeń o charakterze subklinicznym. Metody te stosowane są także do oceny indywidualnej podatności na działanie kosmetyków, leków czy środków do higieny skóry celem wykazania ich potencjalnych właściwości drażniących, jak i leczniczych oraz ochronnych. Ponadto, ich zakres wykorzystywany jest w ocenie skuteczności i bezpieczeństwa aparatów medycznych i kosmetycznych pod kątem oddziaływania na tkankę. Warto podkreślić, iż eksperymentalna ocena właściwości skóry w znaczący sposób przyczyniła się do poznania patomechanizmu wielu jednostek chorobowych i nieprawidłowości skórnych [195, 196].

6.1. KORNEOMETRIA

Metoda korneometrii obejmuje pomiar pojemności elektrycznej skóry, której wartości ściśle związane są ze stopniem nawodnienia naskórka. Można zastosować pomiary w trzech wariantach:

- pojedynczy jednosekundowy, wykorzystywany w celu porównania wartości najwyższych i najniższych, jak i średnich poziomu nawodnienia warstwy rogowej
- ciągły, przez przyłożenie sondy do skóry
- ciągły z komorą powietrzną, bez przyłożenia sondy do skóry [195, 196].

Jednosekundowy pomiar zapobiega rozbieżności wyników, będących następstwem nakładania się efektów okluzji. Badany obszar skóry uciskany jest sondą w przedziale jednej sekundy z siłą równą $7,1 \text{ N/cm}^2$, co obejmuje zasięg działania $20 - 30 \mu\text{m}$ w głąb warstwy rogowej naskórka, przy czym grubość warstwy rogowej wynosi zwykle $10 - 20 \mu\text{m}$. Wynik pomiaru jest wyrażany w jednostkach arbitralnych zawartych w przedziale $0 - 130$, gdzie jedna jednostka odpowiada $0,02 \text{ mg}$ wody na 1 cm^2 warstwy rogowej. Wartości pomiarów korneometrycznych będą należały do niższych przy odwodnionym naskórku, natomiast wzrosną przy odpowiednim jego nawilżeniu [195, 197].

Prawidłowe uwodnienie naskórka warunkuje zarówno obecność NMF w korneocytach, jak również odpowiedni skład, struktura oraz ilość lipidów w przestrzeniach międzykomórkowych. Jest ono zależne od czynników wewnątrzpochodnych - płeć, wiek, hormony, okolica i temperatura ciała oraz zewnątrzpochodnych - ekspozycja promieni UV, temperatura i wilgotność otoczenia, pora roku, dieta, miejscowo stosowane detergenty i emolienty [195, 196, 198].

6.2. TEWAMETRIA

Pomiar TEWL określa sprawność funkcjonowania bariery skórnej, jego mniejsze wartości stanowią odzwierciedlenie właściwego nawilżenia skóry. Współczynnik TEWL opisuje ilość wyrażonej w gramach wody wyparowanej z 1 m^2 skóry w ciągu jednej godziny, a jego jednostkę stanowi $\text{g/m}^2\text{h}$. Nieuszkodzona skóra o zachowanej fizjologii charakteryzuje się niską transepidermalną utratą wody, o wartości mieszczącej się w przedziale $5 - 25 \text{ g/m}^2\text{h}$ [195, 196].

Pomiaru TEWL przeprowadza się przy udziale tewametru, zwanego także ewaporymetrem, który ma kształt cylindra o średnicy 10 mm i wysokości 20 mm , wykazując działanie oparte na I prawie dyfuzji Ficka [195]. Sonda wyposażona jest w dwa czujniki odpowiedzialne za pomiar temperatury i wilgotności, określające wartości gradientu ciśnienia wyparowanej wody. Dostępne urządzenia wyposażone są w systemy pomiarowe o charakterze otwartym oraz zamkniętym. W tych pierwszych czujniki dokonują pomiaru temperatury oraz wilgotności podczas swobodnego przepływu pary wodnej, w typie drugim pomiar koresponduje z przyrostem wilgotności powietrza w komorze zamkniętej [195, 197, 199].

Polegająca na wielokrotnej rejestracji sygnałów sondy metoda ciągła stanowi najbardziej miarodajną postać pomiaru TEWL. W ten sposób umożliwia eliminację wpływu

w zakresie różnic temperatur, jak i wilgotności pomieszczenia, gdzie wykonywane są pomiary. Także wyklucza wpływ cyrkulacji powietrza oraz mimowolne ruchy osoby badanej, jak i badającej [195, 200].

Przez naskórkową utratę wody zależna jest od przepuszczalności warstwy rogowej, wykazując związek zarówno z parowaniem wody przez naskórek wskutek dyfuzji biernej, jak i wydzielaniem potu przez ujścia gruczołów ekrynowych [195]. Na wartość tego współczynnika wywiera wpływ liczba warstw korneocytów, ich wzajemne przyleganie oraz wielkość. Im większa średnica korneocytów, tym niższa wartość TEWL poprzez dłuższą drogę parowania. Wyniki pomiarów TEWL zależne są także od aktywności gruczołów potowych, temperatury ciała, wieku i płci, lokalizacji, stanu emocjonalnego, jak również wilgotności i temperatury otoczenia oraz pory dnia, w której odbywa się pomiar [196, 200].

6.3. KUTOMETRIA

Kutometr pozwala na ocenę biomechanicznych właściwości skóry - rozciągliwości i wiskoelastyczności. Mechanizm działania oparty został na zassaniu fragmentu skóry pod stałym ciśnieniem. Urządzenie składa się z sondy pomiarowej, która w czasie badania zasysa skórę do środka otworu. Wewnątrz sondy znajduje się optyczny system pomiarowy. Składa się on ze źródła i receptorów światła oraz dwóch pryzmatów ustawionych naprzeciwko siebie, przekazujących światło od transmittera do receptora. Intensywność światła zmienia się w zależności od stopnia zassania skóry przez urządzenie [201, 202]. Ludzka skóra jest lekko sprężysta, znaczy to, że zawiera składniki o cechach elastycznych oraz te o cechach plastycznych. Opór skóry przeciwko jej wessaniu do wnętrza sondy (odporność na odkształcenia) oraz zdolność powrotu odkształconej skóry do pierwotnego położenia (elastyczność) są podstawowymi parametrami warunkującymi zdrową skórę [202].

Podczas badania ocenie podlega zatem opór, jaki wywiera skóra w trakcie pomiaru oraz zdolność powracania do stanu wyjściowego [203]. Wyniki nanoszone są na wykresie w postaci krzywej. Określane są:

- maksymalne odkształcenie oceniające zawartość włókien kolagenowych w badanej skórze
- odkształcenie resztkowe obrazujące zawartość włókien elastycznych
- histereza, czyli pole powierzchni na wykresie ograniczone przez krzywą rozciągania i relaksacji, które określa zawartość wody odpowiedzialnej za turgor skóry, elastyczność [201].

Skóra nawilżona jest bardziej elastyczna i mniej sztywna od suchej, zaś skóra bogata w kolagen jest bardziej sprężysta i ulega odkształceniu na krótszy czas. Wyniki pomiarów są uzależnione m. in. od płci, wieku oraz wielkości obszaru skóry i okolicy poddanej badaniu [202, 203].

6.4. PEHAMETRIA

Do oszacowania pH skóry zastosowanie wykazuje pehametr z potencjometrycznym układem pomiarowym składającym się z płaskiej, szklanej elektrody, w której obrębie wyróżnia się elektrodę czynną i porównawczą - odniesienia [196]. Cienka, szklana membrana oddziela elektrody zawierające odmienne roztwory elektrolitów. Wartość pH zostaje określona na podstawie odrębności potencjałów pomiędzy elektrodami, która uwarunkowana jest różnicą stężenia jonów wodorowych (H^+) względem powierzchni skóry a roztworem umieszczonym w elektrodzie odniesienia - zwykle $HgCl+KCl$. Istotnym jest, iż fizykochemicznie pH definiowane jest jako ujemny logarytm stężenia jonów wodorowych w roztworze. Dlatego w przypadku skóry roztworem, w którym oznacza się stężenie jonów H^+ jest mieszanina łoju, potu i wody aplikowanej na powierzchnię naskórka wskutek zwilżenia elektrody [195, 196, 204].

Odczyn - pH skóry właściwej wynosi 7,2 - 7,4, podczas gdy na powierzchni naskórka maleje do 4,0 - 5,5 - wzrost natężenia dysocjacji jonów wodorowych w wyniku aktywności hydrolaz naskórkowych przede wszystkim stanowi o tym zjawisku [196]. Z pomocą tych enzymów powstają kwasy rozpuszczalne w wodzie, jak aminowy, mlekowy i urokainowy, które są zawarte w pocie. Kwaśny odczyn zapewniają także obecne w łoju wolne nienasycone kwasy tłuszczowe oraz produkty rogowacenia w postaci filagryn, wolnych aminokwasów czy kwaśnych produktów metabolizmu, jak również naturalna flora bakteryjna skóry. Substancje te generują tzw. pojemność buforową naskórka, warunkując gradient pH [195].

Wyniki pomiarów uzależnione są od temperatury ciała, której podwyższona wartość koreluje ze wzrostem wydzielania większej ilości potu o mniej kwaśnym odczynie. Również istotne są predyspozycje genetyczne, okolica ciała, płeć, wiek oraz rasa. Ponadto, wartość pH ulega podwyższeniu na skutek aplikacji substancji o odczynie zasadowym, jak detergenty czy kosmetyki [195, 205].

6.5. SEBUMETRIA

W celu określenia zawartości lipidów na powierzchni skóry, tempa wydzielania łoju, jak i czasu odnowy lipidów na naskórku stosowany jest sebumetr. Wyposażony został w głowicę pomiarową o charakterze kasety, zawierającej matową syntetyczną folię o grubości 0,1 mm, której przeznaczeniem jest docisk do badanego obszaru z jednakową siłą 10 N. Stopień przejrzystości folii określa zawarta w sebumetrze fotokomórka. Wynik wyrażony jest w $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ i stanowi różnicę przezroczystości folii przed kontaktem ze skórą oraz po dokonaniu pomiaru [195, 197].

Warstwa lipidowa na powierzchni skóry składa się z mieszaniny lipidów pochodzenia gruczołowego, jak i epidermalnego oraz związków zewnątrzpochodnych w postaci kosmetyków czy leków. W skład łoju wchodzi trójglicerydy, woski, skwalen i estry steroli [195]. Wydzielanie łoju regulowane jest przez hormon wzrostu oraz hormony androgenowe, podlegając rytmowi dobowemu. Le Fur i wsp. określili rytmy dziennego wydzielania łoju, wykazując maksymalne jego wartości w godzinach południowych - 12.00, a minimalne w godzinach nocnych - 24.00 [195].

Wydzielanie łoju definiowane jest jako proces dynamiczny, determinowany czynnikami wewnątrz - i zewnątrzpochodnymi. Duży wpływ zewnątrzpochodny wywiera temperatura otoczenia oraz wilgotność. Wartości wydzielanego łoju w porze letniej są wyższe, aniżeli w miesiącach zimowych. Również dieta tłuszczowo - węglowodanowa sprzyja zwiększonemu łojotokowi. W zakresie czynników wewnątrzpochodnych wpływających na wydzielanie łoju należy wymienić: wiek, płeć, rasę, temperaturę ciała oraz fazę cyklu miesięczkowego. Williams i wsp. donoszą, że wzrost temperatury ciała o 1 $^{\circ}\text{C}$ zwiększa wydzielanie sebum o 10% [195, 197].

Obecność lipidów w rogowej warstwie naskórka stanowi o zmniejszeniu wartości TEWL, zapewniając właściwe uwodnienie keratynocytów. Usunięcie płaszcza lipidowego z powierzchni skóry powoduje jego odbudowę, zwykle w przedziale 2 - 3 godzin [195].

6.6. MEKSAMETRIA

Meksametr dokonuje pomiaru zabarwienia skóry oraz jej zaczerwienienia. Wyposażony jest w źródło światła białego, które obejmuje całe spektrum widzialne, ulegające odbiciu od powierzchni skóry i rejestrowane przez światłoczułe komórki. Zasada pomiaru oparta została na emisji przez aparat wiązki światła o określonej długości fali, a następnie detekcji i analizie niepochłoniętego światła przez chromofory skóry, które uległo odbiciu dyfuzyjnemu i rejestrowane jest z udziałem spektrofotometru [196, 206]. Opis wyników pomiarów dokonuje się w oparciu o model klasyfikacji kolorymetrycznej, zgodnie z którym określone zostają trzy parametry barwy:

$$L^*a^*b, \quad [4]$$

gdzie:

L - luminacja, czyli jasność/jaskrawość,

a i b - chromatyczność barwy (a - od zieleni do czerwieni, b - od barwy niebieskiej do żółtej).

Współrzędne L oraz a wykazują zależność głównie od zawartości melaniny i hemoglobiny. Ocena zawartości melaniny bazuje na analizie pochłaniania i odbicia światła o długości fali odpowiadającej barwie czerwonej i bliskiej promieniowania podczerwonego. Z kolei zawartość hemoglobiny ulega pomiarowi z wykorzystaniem światła zielonego i czerwonego [196, 207].

Rumień odzwierciedla rozszerzenie naczyń skóry i wzmożony przepływ krwi, co prowadzi do zwiększonej zawartości Hb i HbO². Pigmentacja z kolei jest uwarunkowana rodzajem melaniny - eumelanina i feomelanina, sposobem jej gromadzenia w melanosomach, jak również przekazywaniem do komórek naskórka [196, 206].

Meksametria wykorzystywana jest w ocenie zmian zachodzących w skórze wyzwalanych procesem starzenia, ekspozycją na promieniowanie UV, efektów stosowania leków i kosmetyków, jak również rezultatów zabiegowych w zakresie dermatologii estetycznej i kosmetologii. Dlatego wyniki pomiarów obejmują spektrum zależności czynników wyzwalających nieprawidłową pigmentację i rumień. Ponadto, są zależne od wieku, płci, czynników środowiskowych, zaburzeń hormonalnych [196, 207, 208].

6.7. PROFILOMETRIA

Profilometr pozwala ocenić profil geometryczny skóry - głównie ilość i głębokość zmarszczek oraz blizn, jak również inne nierówności skóry. Istnieją techniki, które bezpośrednio wykonują pomiary na skórze oraz takie, które przeprowadza się na modelu skóry (odlew, zdjęcie), gdzie mapa skóry stanowi odzwierciedlenie wyniku pomiaru [209].

Profilometria pośrednia

Polega ona na wykonaniu silikonowych odlewów skórnych, które następnie analizuje się poprzez zastosowanie mikroskopu elektronowego, trójwymiarowej profilometrii laserowej oraz dokonuje się oceny cieni powstałych w ukośnym świetle - badanie szarości. Otrzymane wyniki poddawane są obróbce komputerowej. Technika ta jest metodą pozwalającą na wykrycie bardzo niewielkich różnic w gładkości skóry oraz głębokości zmarszczek [210, 211].

Profilometria bezpośrednia

Jest to badanie mikrotopograficzne, polegające na przyłożeniu głowicy urządzenia wyposażonej w kamerę bezpośrednio do powierzchni skóry. Obraz emitowany z głowicy jest widoczny na monitorze i przeliczany w wartościach względnych. Badanie to jest mniej dokładne i gwarantuje mniej powtarzalne wyniki niż profilometria pośrednia [210, 211].

Przy pomocy profilometrii można ocenić stopień wpływu czynników zewnętrznych, jak ekspozycja na czynnik UV, wiatr, wilgotność, niskie temperatury czy klimatyzacja na powierzchnię skóry, określić proces starzenia skóry i topografię blizn. Wynik determinują również wiek, płeć, układ hormonalny, czynniki genetyczne, lokalizacja [209, 210].

7. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

7.1. ZAŁOŻENIA PRACY

Dynamiczny rozwój dermatologii estetycznej oraz kosmetologii stwarza ciągłą potrzebę opracowywania zarówno nowych technologii aparaturowych, jak i procedur łączonych celem uzyskiwania najskuteczniejszych, szybkich i stabilnych rezultatów. Dlatego też zastosowanie technologii łączonych w terapii anti - aging to interdyscyplinarne podejście do procesów odmładzania, ponieważ taka forma synergii umożliwia wielokierunkową i holistyczną stymulację skóry. Zapewnia silną regenerację i jej odnowę, wywołując globalną modyfikację poprzez wzrost jej gęstości, elastyczności, jak i nawilżenia. Techniki łączone stanowią przyszłość w zakresie stymulacji skóry i wykorzystania jej biofizycznego potencjału.

Analiza danych źródłowych wykazuje, iż przeprowadzenie zabiegów częstotliwościami radiowymi prowadzi do podwyższenia temperatury tkanki w miejscu działania, umożliwiając zmiany konformacyjne włókien kolagenowych oraz wyzwala stymulację komórek odpowiedzialnych za ich syntezę, co wpływa na gęstość, elastyczność skóry oraz jej nawilżenie. Prąd wysokonapięciowy w postaci elektroporacji z kolei, wykorzystujący preparat zjonizowany, umożliwi chemiczną stymulację fibroblastów do syntezy kolagenu, jak również dodatkowy wzrost nawilżenia skóry w obszarze zabiegowym. Połączenie radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją powinno zapewnić:

1. Większy wzrost nawilżenia skóry, aniżeli sama radiofrekwencja, poprzez zwiększoną ilość włókien kolagenowych, wiążących do 70% wody w skórze właściwej oraz zwiększoną ilość glikozaminoglikanów.
2. Większy wzrost napięcia skóry w wyniku większej ilości kolagenu, jak i elastyny - poprzez synergistyczną stymulację termiczną i chemiczną, co wpłynie na lepszą poprawę kondycji skóry, zwiększy jej wytrzymałość i elastyczność.
3. Zwiększenie trwałości uzyskanych rezultatów w terapii anti - aging.

7.2. CEL PRACY

Głównym celem badań w ramach pracy doktorskiej była ocena skuteczności działania synergii radiofrekwencji mnopolarnej i elektroporacji w technice łączonej w zakresie trwałości zmian parametrów biofizycznych skóry. Główne założenia niniejszej pracy realizowano poprzez następujące cele:

1. Zastosowanie techniki łączonej radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją, jako metody zabiegowej.
2. Pomiar i analizę określonych parametrów biofizycznych skóry poprzez zastosowanie kurneometrii, kutometrii i tewametrii w wybranych przedziałach czasu.
3. Subiektywną ocenę wyglądu skóry za pomocą ankiety w wybranych przedziałach czasu.

8. METODY I MATERIAŁY BADAWCZE

8.1. OPIS GRUPY BADANEJ

Przebadana została grupa wiekowa w przedziale 39 - 59 lat licząca 51 kobiet, na której przeprowadzono trzy zabiegi synergii radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją w odstępie miesiąca oraz trzech miesięcy. Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wyraziła zgodę na przeprowadzenie wymienionych badań dla celów niniejszej pracy doktorskiej (załącznik nr 1).

Kryteria włączenia

Dobrane zostały kobiety z klinicznie cerą suchą i mieszaną, pozbawioną schorzeń dermatologicznych oraz widocznymi zmarszczkami, o fototypie II, III i IV według skali Fitzpatrick'a, które w ciągu roku nie miały przeprowadzanych żadnych zabiegów kosmetycznych, jak również z zakresu medycyny estetycznej, a w przypadku pielęgnacji zalecono jedynie krem nawilżający, który rozpoczęto stosować co najmniej trzy miesiące przed pierwszym pomiarem oraz kontynuowano przez cały okres trwania projektu.

Kryteria wyłączenia

- rozrusznik/niewydolność serca
- metalowe implanty w obszarze zabiegowym
- choroby nowotworowe i okres 5 lat od wyleczenia
- hemofilia
- zakrzepica, zapalenie żył
- nadciśnienie, niedociśnienie
- ciąża i laktacja
- choroba psychiczna
- RZS
- osteoporoza
- epilepsja
- astma
- ostra cukrzyca
- kurcze, upośledzenie ruchowe
- niezdiagnozowany ból
- choroba zakaźna lub infekcyjna

- gorączka
- biegunka i wymioty
- zapalenie wątroby
- miejscowa opuchlizna, obrzęk
- hipernadwrażliwość skórna
- otarcia, skaleczenia (przerwana ciągłość naskórka)
- utrata czucia (test dotykowy)
- poparzenie słoneczne
- niedawne złamania
- nierozpoznane guzy i zgrubienia
- zasinienia
- botox i wypełniacze
- osoby pod wpływem alkoholu i narkotyków.

8.2. METODY BADAWCZE

8.2.1. METODYKA ZABIEGOWA

Zarówno przed, jak i od razu po wykonaniu każdego z trzech zabiegów zostało przeprowadzone badanie korneometryczne, tewametryczne i kutometryczne. Po wykonaniu pierwszego z trzech zabiegów kolejny zabieg odbył się po upływie miesiąca, natomiast ostatni zabieg po trzech miesiącach. Po odstępie trzech miesięcy od ostatniego zabiegu wykonano końcowe badanie pomiarowe.

Badania przeprowadzono w pomieszczeniu o temperaturze powietrza 20 - 22°C i wilgotności względnej 40 - 60%. Probantkom zalecono rezygnację z makijażu w dniu pomiaru oraz nie stosowanie kremów i preparatów myjących na 2 godziny przed badaniem. Na 30 minut przed wykonaniem pomiaru został zapewniony pacjentkom odpoczynek w miejscu badania, w celu wyrównania temperatury powierzchni skóry.

Do badań został przygotowany formularz świadomej zgody na udział w badaniu, ankieta, karta zabiegowa wraz z przeciwwskazaniami, a także protokół postępowania oraz zgoda RODO (załączniki nr 2 - 6). Wyniki były zapisywane zarówno przed, jak i po przeprowadzeniu zabiegu.

Przebieg zabiegu

Sprawdzono stan techniczny aparatury badawczej, jak i zabiegowej, przygotowano stanowisko oraz odpowiednie akcesoria zabiegowe. Zadbano o wyrównanie temperatury organizmu i przygotowanie pacjentki do badania. Zgodnie z zasadami BHP zapewniono bezpieczeństwo probantce oraz osobie wykonującej zabieg. Ściągnięto szkła kontaktowe i metalowe przedmioty w przypadku ich obecności. Stwierdzono brak ograniczeń do przeprowadzenia badania. Wykonano oczyszczenie obszaru zabiegowego za pomocą płatka zwilżonego 0,9% NaCl oraz dokonano diagnozy tego obszaru. Zachowano właściwy i niezmienny kąt ułożenia głowy. Sporządzono fotografię przed wykonaniem zabiegu. Umyto dłonie żelem antybakteryjnym i nałożono rękawiczki jednorazowe celem zapewnienia izolacji.

Przeprowadzono badanie korneometryczne, tewametryczne, kutometryczne. Rozprowadzono zjonizowaną ampułkę i odpowiednią ilość preparatu przewodzącego. Poinformowano probantkę o odczuciach podczas zabiegu. Umieszczono jednorazową elektrodę bierną na prawym ramieniu, wybrano odpowiednią głowicę zabiegową w postaci radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją. Zdezynfekowano głowicę. Włączono aparaturę i rozpoczęto emisję dawkowania radiofrekwencji monopolarnej wraz z elektroporacją. Wykonywano płynne, jednostajne ruchy, nie zatrzymywano głowicy w jednym miejscu, co mogłoby wyzwoić poparzenie. Nie odrywano głowicy w trakcie wykonywania zabiegu - gwałtowne oderwanie elektrody czynnej od skóry mogłoby spowodować wyładowanie elektrostatyczne. W obszarze kości oraz przebiegu nerwów aplikowano mniejszą energię. Podczas wykonywania zabiegu był przeprowadzany pomiar temperatury naskórka termometrem IR. Przy uzyskaniu temperatury naskórka w zakresie 40 - 43°C, moc wyjściową zmniejszono do poziomu zapewniającego jej utrzymanie. Obszar zabiegowy nagrzewano w zakresie 5 min/5 cm², w obszarze całej twarzy czas zabiegu wynosił 40 minut. Zastosowano radiofrekwencję monopolarną o częstotliwości 500 kHz, mocy (max) 150W oraz elektroporację o częstotliwości 1kHz, mocy (max) 10W - aparatura Intraject firmy Biotec Italia (ryc. 3), certyfikowana medycznie, posiadająca certyfikaty m.in. ISO 9001 i ISO 13485. Średnica głowicy wynosiła 0,95 cm². Elektroporacją została wprowadzona zjonizowana ampułka Neo Age firmy Renlive Biotec Italia, zawierająca prolinę, argininę, cysteinę, metioninę, kwas hialuronowy, witaminę A, C i E, biotynę, witaminę B6, B12. Preparat zastosowano zgodnie z zaleceniami producenta. Płynnymi, podłużnymi ruchami opracowano obszar czoła, oczu, bruzdy nosowo-wargowej, policzków, żuchwy i podbródka. Po zakończeniu procedury

zabiegowej, ustawiono wartość energii w pozycji „0”, następnie oderwano elektrodę czynną. Kontrolowano odczyn skóry w polu zabiegowym.



Ryc. 3 Certyfikowana medycznie aparatura Intraject wyposażona w radiofrekwencję monopolarną z elektroporacją firmy Biotec Italia [zdjęcie własne].

Po finalizacji dawkowania energii pojawił się rumień, utrzymujący się kilka minut do kilku godzin. Wykonano fotografię po zabiegu, kontrolując kąt ułożenia głowy i kąt padania światła. Ponownie przeprowadzono badanie korneometryczne, tewametryczne, kutometryczne. Przekazano probantce zalecenia pozabiegowe. Wybrane fotografie rezultatów przeprowadzonej terapii zostały umieszczone w rozdziale 9 w postaci rycin 30 - 40.

8.2.2. METODYKA POMIAROWA

Przeprowadzono pomiary: tewametryczne, korneometryczne, kutometryczne. Każdorazowo wykonywano 6 pomiarów dla każdej z metod: 3 pomiary na kości jarzmowej z lewej oraz prawej strony. Wyniki podano w postaci wartości średnich obliczonych na podstawie potrójnego pomiaru. Ze względu na podparcie kostne dla sondy pomiarowej

wybrano obszar kości jarzmowej w zakresie zastosowania pomiarów, aby uzyskiwane wyniki były powtarzalne i nie zaburzały rezultatów badania.

8.2.2.1. KUTOMETRIA

Pomiar elastyczności skóry został wykonany przy udziale kutometru aparatu Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic (ryc. 4 i 5), którego zasada działania opierała się na metodzie zasysania - pod wpływem podciśnienia skóra została delikatnie wciągnięta do wnętrza otworu sondy. Wewnątrz sondy znajdował się optyczny system pomiarowy, składający się z źródła i receptorów światła oraz dwóch pryzmatów ustawionych naprzeciwko siebie, przekazujących światło od transmitera do receptora. Intensywność światła wykazywała zmienność w zależności od stopnia zasysania skóry przez urządzenie. Przed rozpoczęciem pomiaru głowica sondy została zdezynfekowana oraz przetarta suchą chusteczką kosmetyczną. Podczas procedury pomiarowej użyto stałego i lekkiego nacisku sondy na skórę, dbając o jej całkowitą styczność względem obszaru pomiarowego. Sonda została zasysana na 3 sekundy, z ujemnym ciśnieniem równym 400 mbarów. Po upływie tego czasu skóra powróciła z przestrzeni otworu sondy w ciągu kolejnych 3 sekund. Głębokość penetracji skóry została określana i zapisywana w sposób optyczny, podczas zasysania i zwolnienia sondy. Pomiar obejmował odporność skóry na ciśnienie (a) - jędrność, w stosunku do jej zdolności powrotnych do pozycji początkowej (b) - elastyczność, co wyraża zależność:

$$E = \frac{a-b}{a} \cdot 100, \quad [5]$$

gdzie:

a- jędrność,

b- elastyczność,

E- elastyczność w %.

Zmierzone zostało maksymalne odkształcenie włókien kolagenowych i elastynowych, histereza oraz elastyczność.



Ryc. 4. Aparat Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic [zdjęcie własne].



Ryc. 5. Kutometr aparatu Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic [zdjęcie własne].

8.2.2.2. KORNEOMETRIA

Pomiar nawilżenia skóry oparty został na metodzie pojemnościowej za pomocą korneometru aparatu Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic (ryc. 6). Przed rozpoczęciem pomiaru głowica sondy została zdezynfekowana oraz przetarta suchą chusteczką kosmetyczną. Badana została zależność pomiędzy pojemnością elektryczną a zawartością wody w naskórku. Zasadniczym elementem aparatu była sonda, w której znajdowały się dwie ścieżki metaliczne. Jedna ze ścieżek odpowiedzialna była za kumulację nadwyżki elektronów (ładunek ujemny), a druga za ich brak (ładunek dodatni). Ścieżki oddzielone zostały od powierzchni skóry szklaną płytką. W chwili kontaktu głowicy z powierzchnią skóry przez górne warstwy naskórka przepływało zmienne pole elektryczne, którego wartość zależna była od zawartości wody. Im więcej wody w tkance, tym mniejszy opór elektryczny i lepszy przepływ prądu. Wzrost lub zmniejszenie uwodnienia warstwy rogowej, ze względu na stałą dielektryczną wody, powodował proporcjonalne zmiany przewodnictwa elektrycznego. Umieszczono głowicę sondy pionowo na obszarze skóry objętej

pomiarem, odpowiednio do nacisku sprężyny w sondzie na czas 1 sekundy. Kontakt sondy ze skórą uruchamiał rozpoczęcie pomiaru. Wartości pomiaru określone zostały w procentach.



Ryc. 6. Korneometr aparatu Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic [zdjęcie własne].

8.2.2.3. TEWAMETRIA

Pomiar TEWL przeprowadzono z wykorzystaniem tewametru aparatu Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic (ryc. 7). Przed rozpoczęciem pomiaru głowica sondy została zdezynfekowana oraz przetarta suchą chusteczką kosmetyczną. Pomiar ten oparty był na metodzie otwartej komory, gdzie woda wyparowuje przez pusty cylinder sondy. Wynik w postaci gradientu gęstości mierzony był pośrednio przez dwie pary czujników - wilgotności względnej oraz temperatury. Następnie podlegał analizie przez mikroprocesor. Celem zachowania dokładnego pomiaru sonda została ułożona płasko na skórze, ze stałym i lekkim naciskiem. Czas każdorazowego pomiaru wynosił 15 sekund. Wartość indeksu TEWL wyrażona została w jednostkach $gm^{-2}h^{-1}$.



Ryc. 7. Tewametr aparatu Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic [zdjęcie własne].

8.2.3. ANKIETA AUTORSKA

Po wykonaniu wszystkich zabiegów, na ostatnim pomiarze probantki zostały poproszone o wypełnienie ankiety oceniającej zastosowaną u nich terapię 3 zabiegów radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją. Pytano o czas zaobserwowania pierwszych rezultatów zastosowanej terapii; okolice twarzy, w jakich obserwowane były efekty terapii i ocenę uzyskanych rezultatów; sposób pielęgnacji i rodzaj skóry, okolicę i stopień nasilenia przesuszenia skóry twarzy oraz jej przyczynę, ochronę przed chłodem i UV, okres menopauzy, stopień narażenia skóry twarzy na czynniki zewnętrzne, doświadczanie wpływu czynników fizykochemicznych, a także działania niepożądane. Ankietę umieszczono jako załącznik nr 3.

8.2.4. METODY ANALIZY STATYSTYCZNEJ

Do analizy wyników wykorzystano oprogramowanie Statistica 13 oraz program MS Excel z pakietu Office 360.

Wyniki ilościowe przedstawiono jako wartości średnie z odchyleniem standardowym ($\bar{x} \pm SD$), a dodatkowo zawarto parametry położenia, takie jak: kwartył 1: Q1, medianę: Me oraz kwartył 3: Q3 i wartości min./maks.

Dobór metod statystycznych był powiązany z określeniem zgodności z rozkładem normalnym rozkładu zmiennych, określeniu rodzajów skal pomiarowych oraz określeniu modelu przyczynowo - skutkowego uzyskanych wyników. Sprawdzenie zgodności rozkładu wyników w stosunku do rozkładu normalnego przeprowadzono za pomocą testu Shapiro - Wilka, każdorazowo dla każdego z analizowanych parametrów. Wszystkie analizowane skale były skalami ilościowymi o typie skali porządkowej oraz ilorazowej.

Prawidłowe określenie wpływu terapii, czyli określenia przyczyny (terapii) na uzyskane różnice w rezultatach (skutek) było możliwe do osiągnięcia za pomocą testów statystycznych dla zmiennych zależnych.

Porównanie rezultatów przed i po terapii dla zmiennych zależnych zostało przeprowadzone za pomocą testu Wilcoxona (porównanie dwóch grup rezultatów) oraz testem Friedmana (porównanie więcej niż dwóch grup rezultatów). Test Wilcoxona posłużył do oceny bezpośredniego wpływu zastosowanej terapii. Test Friedmana umożliwił ocenę skuteczności terapii w czasie oraz sprawdzenie postępów terapeutycznych.

W modelach gdzie badano wpływ czynników na uzyskane rezultaty, tj. modelach czynników niezależnych, wykorzystano test Manna - Whitney`a oraz test korelacji rang Spearmana. Test Manna - Whitney`a posłużył do porównywania wyników ilościowych (zmiennych zależnych) dla dwóch grup (czynnika niezależnego). Natomiast ocena dwóch parametrów ilościowych, gdzie jednym z nich był badany parametr oceniający skórę poddaną terapii (zmienne zależne) w stosunku do ilościowego czynnika (zmienna niezależna), została wykonana metodą korelacji.

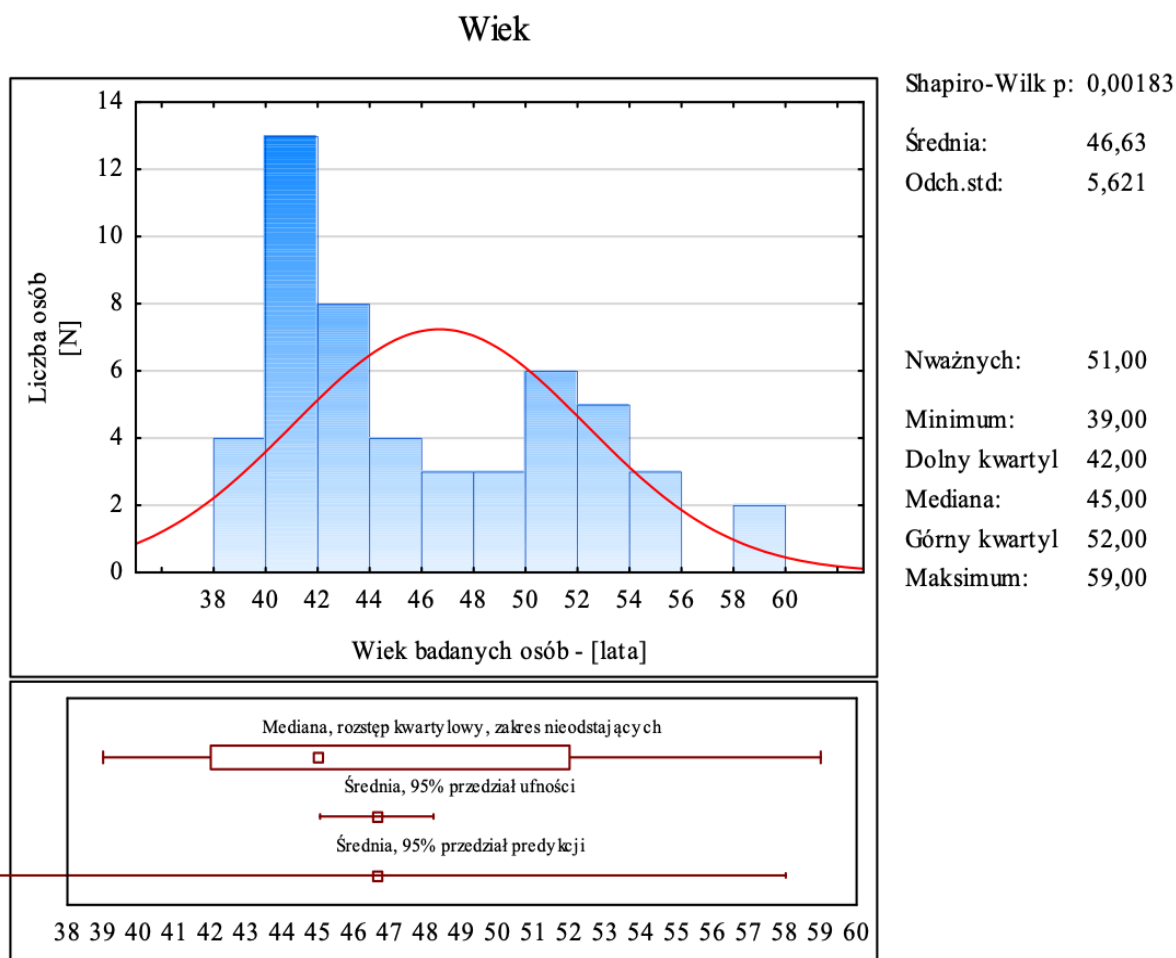
Istotne zależności między grupami dla analizowanych wyników występowały gdy wartość $p < 0,05$.

9. WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

9.1. ANALIZA OPISOWA

9.1.1. ANALIZA OPISOWA

Cała badana grupa osób liczy 51 kobiet, których średni wiek jest na poziomie 46,6 lat z odchyleniem standardowym wynoszącym 5,7 lat. Zakres wieku mieści się w przedziale od 39 do 59 lat, z czego połowa badanych osób (rozkład międzykwartylowy) ma wiek w przedziale od 42 do 52 lat, co zostało przedstawione na rycinie 8.

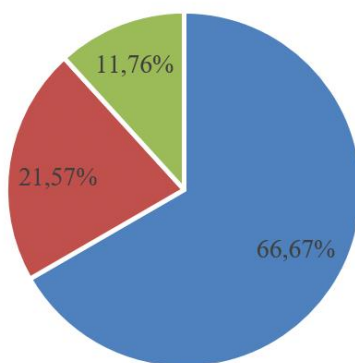


Ryc. 8. Rozkład wieku badanych osób.

W związku z przedziałem wiekowym obowiązującym w projekcie, w ankiecie uwzględniono pytanie dotyczące menopauzy. Wyniki w tym zakresie zilustrowano na rycinie 9. W przypadku 11,8% kobiet padła odpowiedź twierdząca, a kolejne 21,6% wskazuje, że jest w trakcie procesu menopauzy, ale do łagodzenia jego skutków stosuje jedynie środki niefarmakologiczne. Pozostałe 66,7% całej grupy ankietowanych podaje, że jeszcze nie jest w trakcie menopauzy.

Przechodzenie przez proces menopauzy

■ Nie ■ W trakcie – stosowanie środków niefarmakologicznych ■ Okres po menopauzie

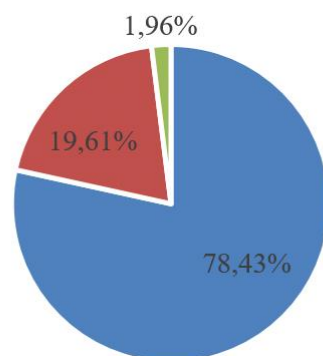


Ryc. 9. Przechodzenie przez proces menopauzy wśród osób badanych - wyniki ankiety.

Informacje zawarte na rycinie 10 dotyczą odpowiedzi ankietowanych w zakresie typu skóry według klasyfikacji Fitzpatrick'a. Najwięcej, bo 78,4% badanych kobiet wskazuje, że ma typ II (biała skóra, łatwo ulegająca poparzeniom, minimalnie i trudno opalająca się), prawie czterokrotnie mniejsza grupa respondentek (19,6%) odpowiedziała, że posiada skórę w typie III (ciemniejsza biała skóra, opalająca się, po początkowym poparzeniu), a jedynie jedna pacjentka (2% badanych) odpowiedziała, że ma skórę w IV typie (jasnobrązowa skóra, ulegająca minimalnym poparzeniom, łatwo opalająca się).

Typ skóry według klasyfikacji Fitzpatrick'a

- 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)



Ryc. 10. Typy skóry osób badanych według klasyfikacji Fitzpatrick'a – ankieta.

9.1.2. OCENA KLINICZNA

W poniższym podpunkcie przedstawiono informacje kliniczne dotyczące występowania dolegliwości badanych pacjentek oraz wyników w zakresie niekorzystnych czynników fizykochemicznych działających na badane kobiety.

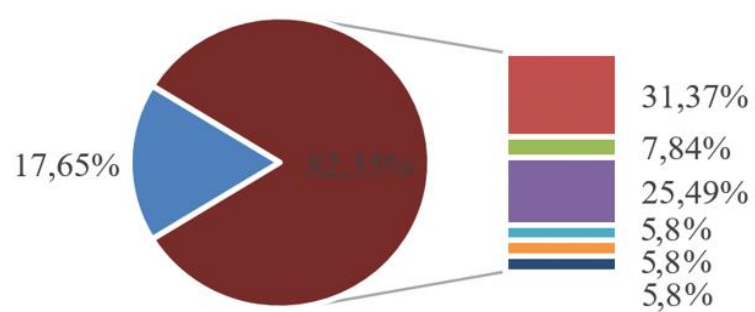
Na rycinie 11 zawarto odpowiedzi badanych kobiet dotyczące przyczyn przesuszenia skóry. Spośród wszystkich osób, 17,6% wskazuje przyczyny wrodzone, a pozostałe 82,3% podkreśla czynniki środowiskowe. Do najczęściej wymienianych czynników środowiskowych należy promieniowanie UV oraz zmiany hormonalne – grupy liczące odpowiednio 31,4% oraz 25,5% badanych. Niewielka, gdyż tylko 7,8% grupa wskazuje czynniki farmakologiczne, a probantki wskazujące na zmiany zapalne, kosmetyki lub inne zaburzenia endokrynologiczne liczą po 5,9% całej grupy.

Siedem badanych kobiet nie podało okresu występowania przesuszenia skóry, dla pozostałych 44 średni okres wynosi 17,2 lata z odchyleniem 17. Należy jednak zwrócić uwagę, że 17 kobiet wskazuje okres wynoszący do 5 lat, a kolejne 12 do 10 lat, co stanowi ponad połowę obserwowanych przypadków.

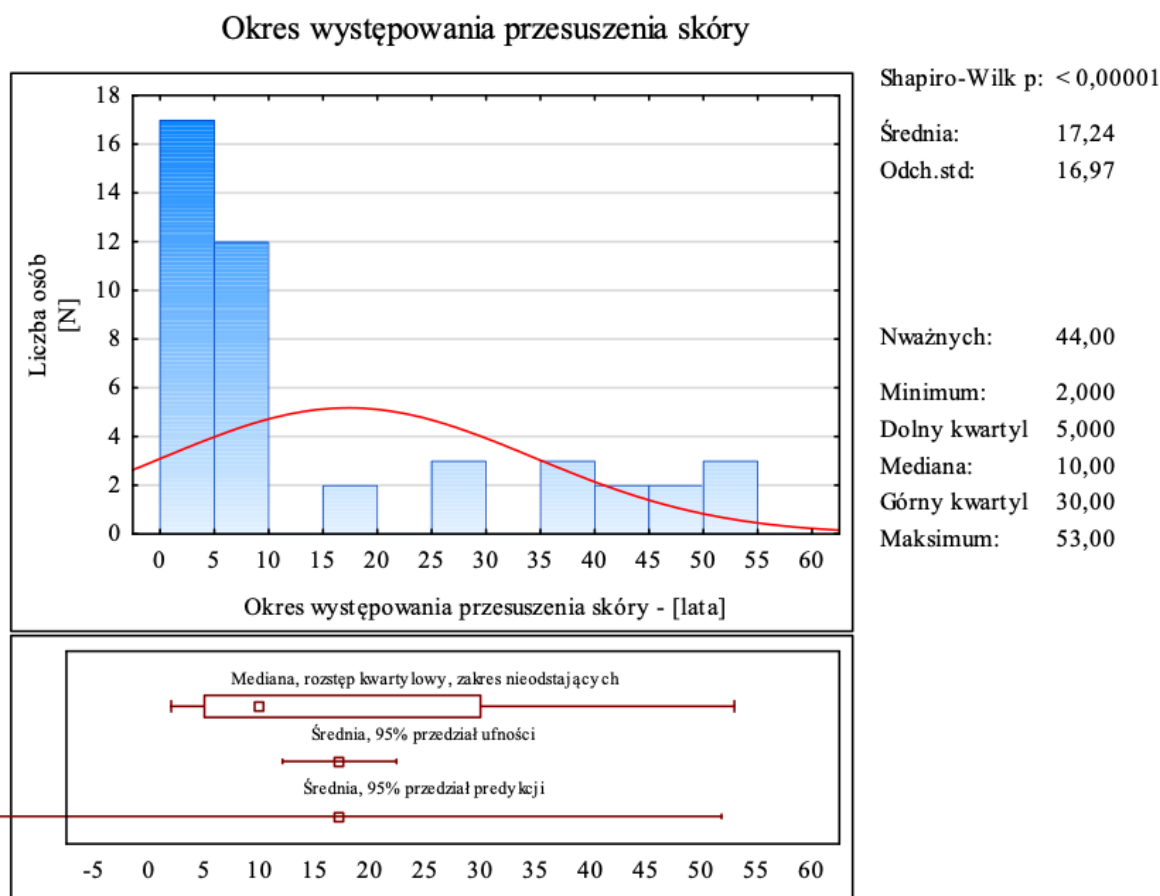
Dla kolejnych 13 przypadków okres trwania przesuszenia skóry mieści się w przedziale od 15 do 55 lat. Całość wyników zebrano na rycinie 12.

Przyczyna przesuszenia skóry

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



Ryc. 11. Przyczyny przesuszenia skóry – ankieta.

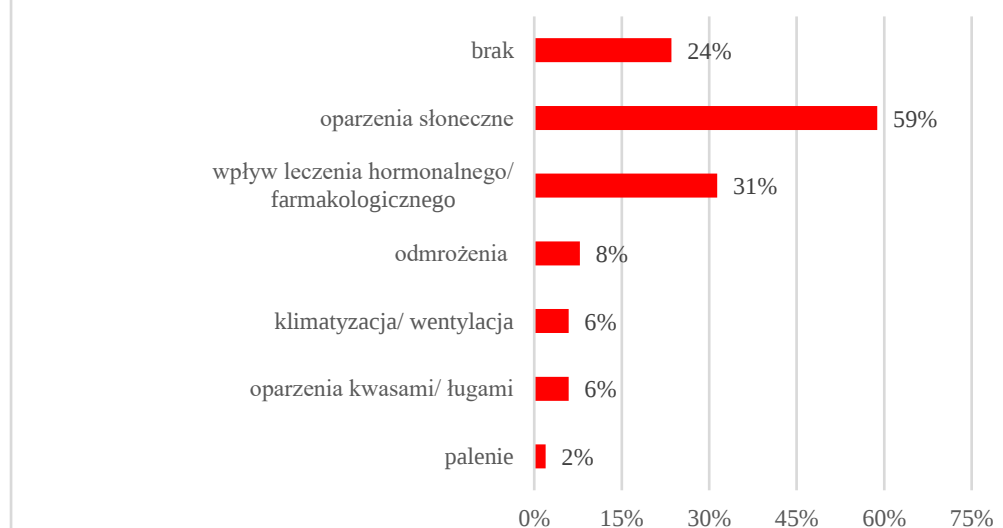


Ryc. 12. Występowanie przesuszenia skóry – ankieta.

Doświadczenie wpływu czynników fizykochemicznych wskazuje 76,5% badanych kobiet. Do najczęściej wymienianych należą oparzenia słoneczne – 58,8% osób oraz wpływ leczenia hormonalnego/farmakologicznego – 31,4% wskazań. Najrzadziej ankietowane wskazywały, że są narażone na odmrożenia (7,8%), klimatyzację/wentylację czy też oparzenia kwasami/ługami (po 5,88% na odpowiedź). Tylko jedna pacjentka wskazuje, że jest narażona na palenie (ryc. 13).

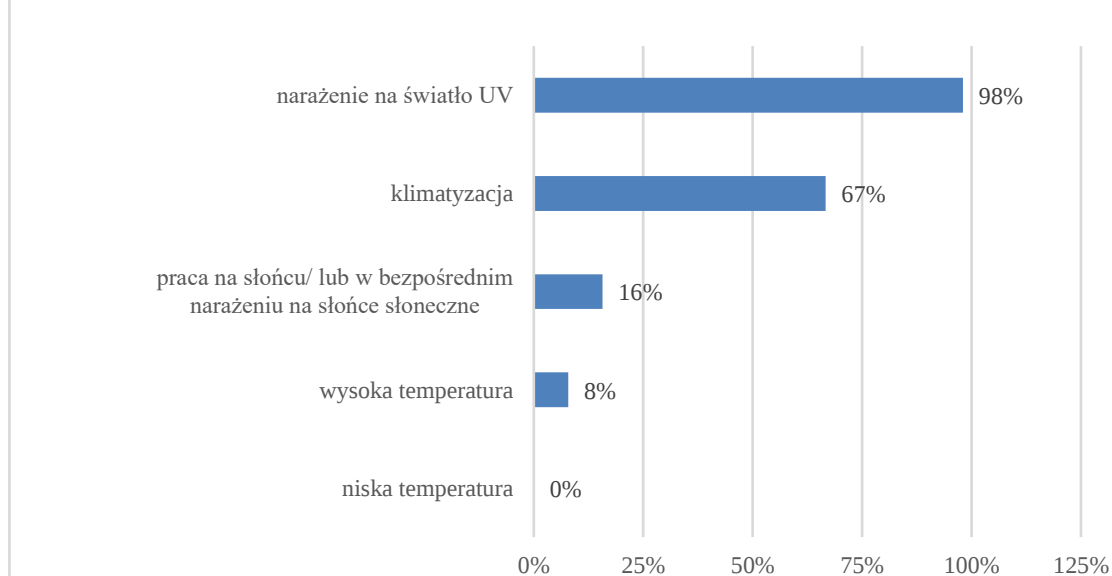
Do najczęściej wymienianych czynników szkodliwych w miejscu pracy przez ankietowane należy narażenie na światło UV – 98% wskazań oraz narażenie na klimatyzację – 66,7% wskazań. Zdecydowanie rzadziej ankietowane wskazują narażenie na pracę w słońcu lub bezpośrednim nasłonecznieniu. Czy też pracę w wysokich temperaturach – wyniki dla wskazań wynoszą odpowiednio 15,7% całej grupy oraz 7,8% (ryc. 14).

Doświadczanie wpływu czynników fizykochemicznych



Ryc. 13. Narażenie na czynniki fizykochemiczne – ankieta.

Narażenie w pracy czynnikami szkodliwymi dla skóry



Ryc. 14. Narażenie w pracy na czynniki szkodliwe dla skóry – ankieta.

Na rycinie 15 przedstawiono średnie wyniki dla skali stopnia nasilenia na przesuszenie skóry. Utworzona skala posiadała zakres od 1 (najmniejsze) do 5 (największe) nasilenie przesuszenia skóry twarzy. Najwyższy wynik dotyczący przesuszania skóry twarzy dla całej

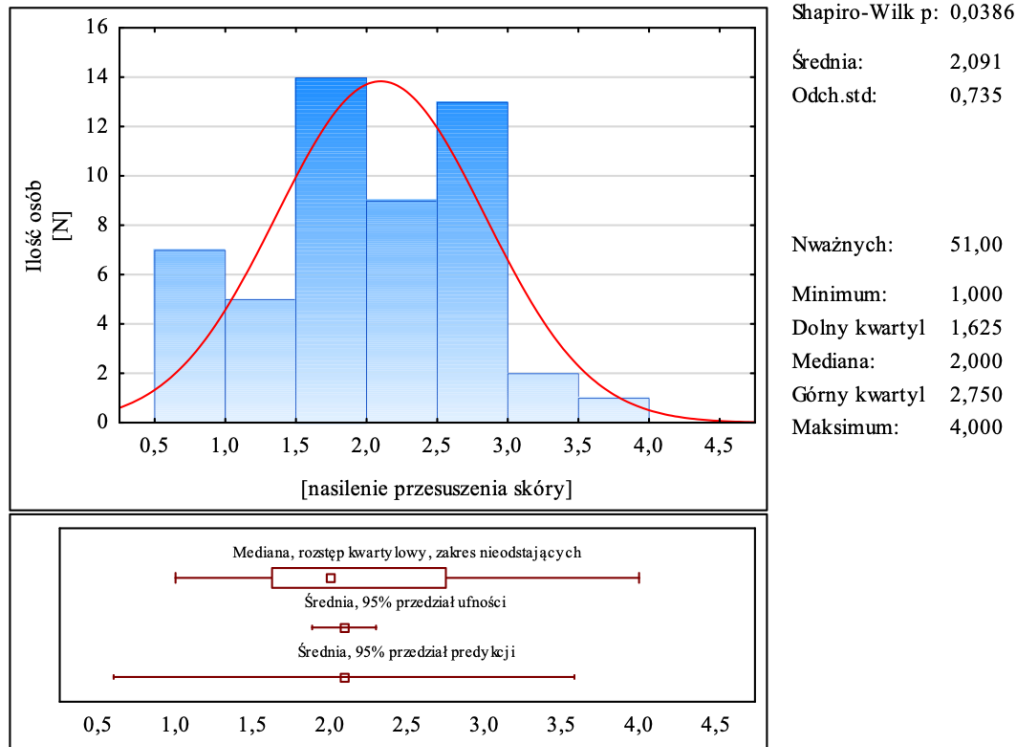
badanej grupy dotyczył powieki dolnej – 2,4 oraz innych miejsc – 2,3 (najczęściej wymieniane odpowiedzi to nos). Kolejne miejsca ze znacznym przesuszeniem dotyczyło występowania przesuszania w okolicy czoła – 2,2. Takie same średnie wyniki w zakresie przesuszenia obserwowano dla policzków oraz „chomików” po 2,1. Najniższe obserwowane rezultaty w ocenie występującego przesuszania są na poziomie od 1,8 do 1,9 i dotyczą bruzdy nosowo - wargowej, zmarszczek marionetki oraz lwiej zmarszczki.



Ryc. 15. Ocena subiektywna stopnia nasilenia przesuszenia skóry twarzy z podziałem na lokalizację - wyniki średnie.

Wszystkie analizowane wyniki dla poszczególnych obszarów przesuszenia twarzy uśredniono dla każdej badanej osoby. Wyniki ocenianego przesuszenia mieszczą się od 1 do 4, ale połowa badanych oceniała swoje przesuszenie skóry twarzy w zakresie od 1,6 do 2,7. Średni wynik końcowej oceny nasilenia przesuszenia skóry twarzy jest na poziomie $2,1 \pm 0,8$. Całość rezultatów zawarto na histogramie poniżej (ryc. 16).

Końcowa ocena nasilenia przesuszenia skóry twarzy



Ryc. 16. Całościowa ocena subiektywna nasilenia przesuszenia skóry twarzy - wyniki ankiety 3 miesiące po zakończeniu terapii.

Wśród wymienianych sposobów radzenia sobie z problemami przesuszonej skóry ankietowane kobiety wskazują głównie sposoby domowe/samodzielne szukanie rozwiązania – 96,1% całej grupy. Wśród badanych, które konsultują się z kosmetologiem czy też dermatologiem jest odpowiednio 39,2% całej grupy oraz 19,6%. Stosowanie kosmetyków czy konsultacje z lekarzem rodzinnym stosuje jedynie jedna osoba w grupie. Wyniki przedstawiono na rycinie 17.



Ryc. 17. Sposoby radzenia sobie z problemem przesuszonej skóry w grupie badanej – wyniki ankiety.

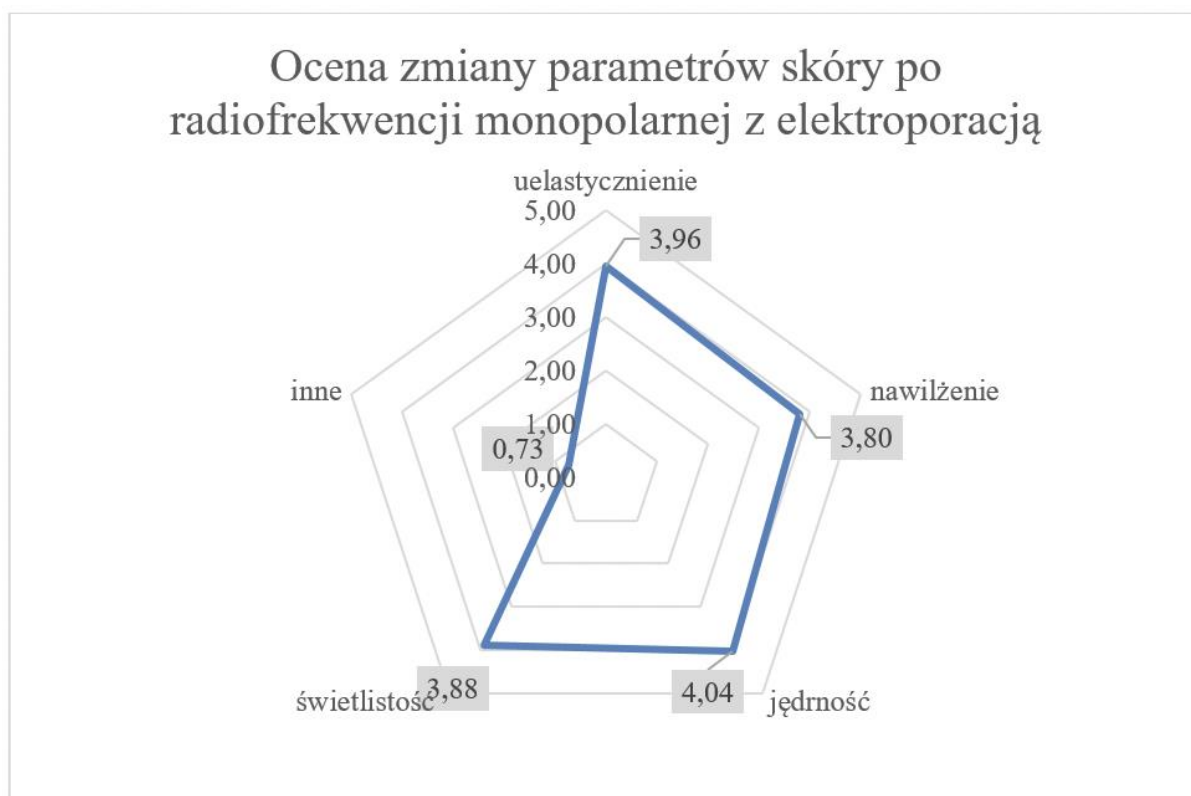
9.2. WYNIKI BADAŃ

9.2.1. ANALIZA STATYSTYCZNA WYNIKÓW

W poniższym podpunkcie przedstawiono subiektywne oraz obiektywne wyniki w zakresie oceny skóry po radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją.

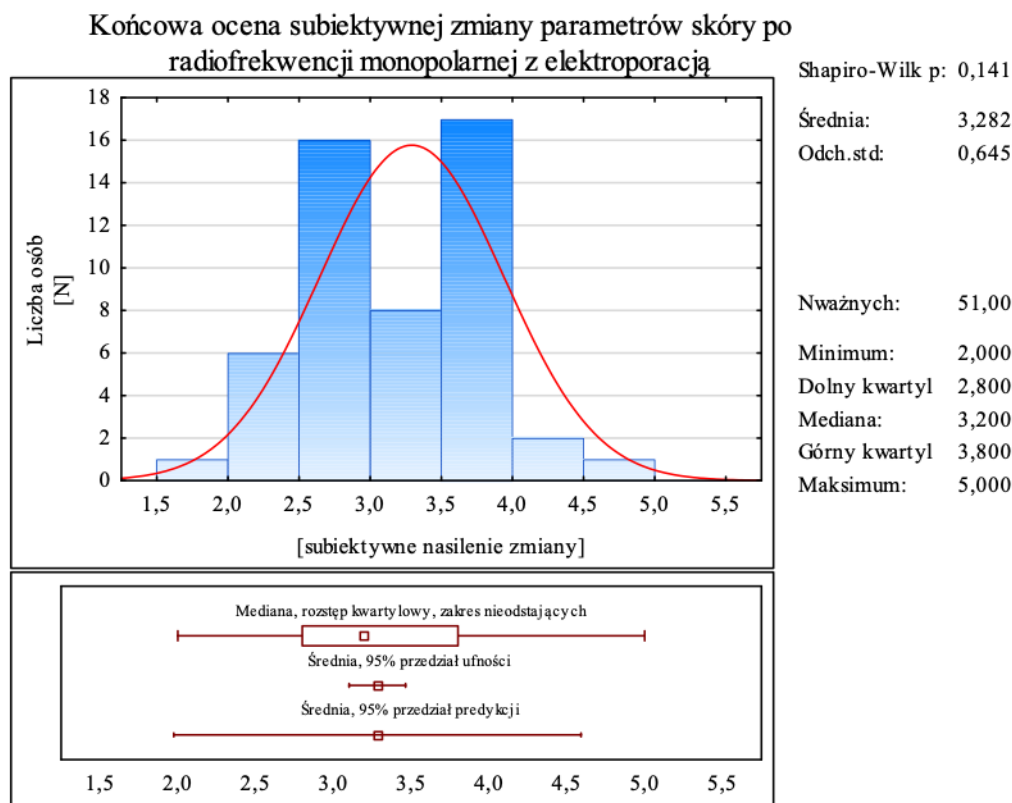
9.2.2. SUBIEKTYWNA OCENA SKUTECZNOŚCI TERAPII

Ocena wyników dotyczących subiektywnej oceny zmiany wyglądu skóry po radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją była zapisywana przez ankietowane w skali od 0 (brak poprawy) do 5 (bardzo duży efekt) w zakresie takich czynników, jak uelastycznienie, nawilżenie, świetlistości oraz jędrność (ryc.18). Według respondentek ostatni parametr był najwyżej ocenianym – 4,0 dla wartości średniej. Pozostałe wskazania posiadają zbliżone rezultaty od 3,8 do 4,0. Ankietowane kobiety nie podawały innych czynników jako tych, gdzie wskazywały poprawę.



Ryc. 18. Ocena subiektywna parametrów skóry w grupie badanej – wyniki średnie.

Tworząc końcowy wskaźnik oceny subiektywnej zmiany wyglądu skóry po radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją uzyskano końcową wartość wynoszącą $3,3 \pm 0,6$ a zakres wyników mieścił się od 2 do 5. Rozkład wyników zawarto na histogramie poniżej (ryc. 19).

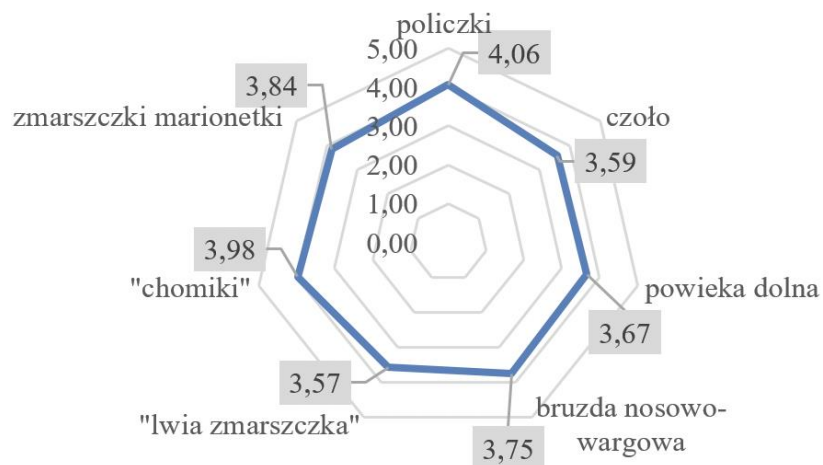


Ryc. 19. Całościowa ocena subiektywna zmiany wyglądu skóry w grupie badanej – wyniki ankiety 3 miesiące po zakończeniu terapii.

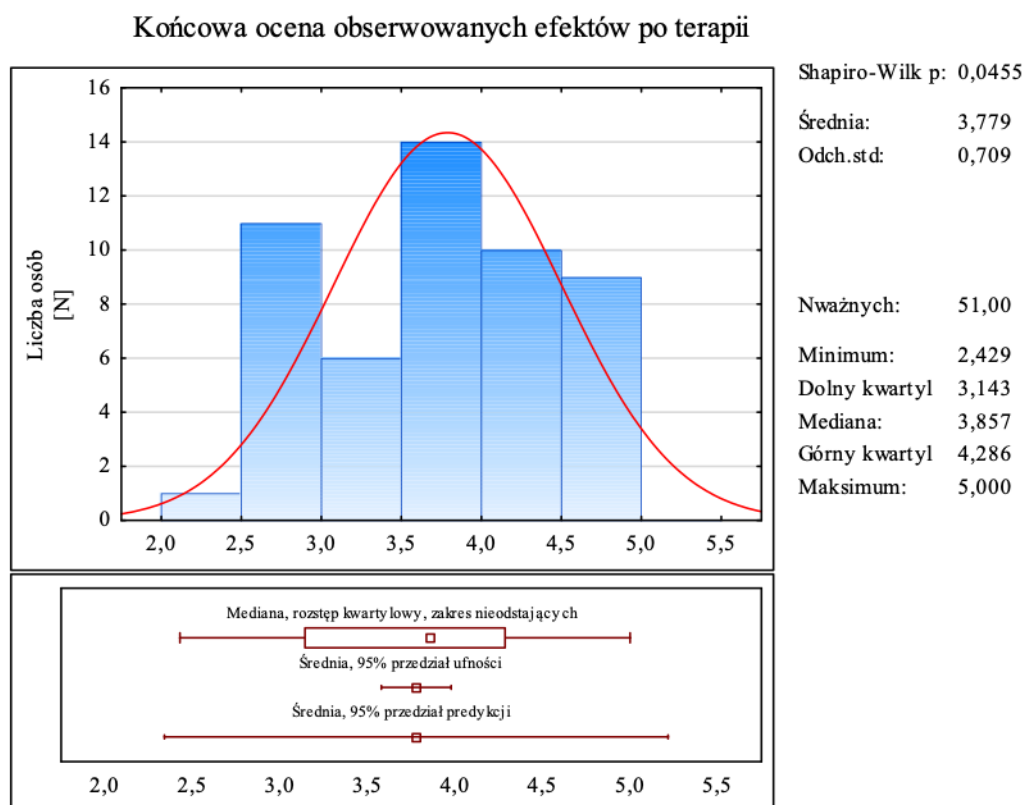
Najwyższy poziom efektów (w skali od 0 brak efektu do 5 duży efekt) zaobserwowano dla okolicy policzków – średnio 4,1. Dla takich miejsc jak czoło, powieka dolna, bruzda nosowo - wargowa, łwia zmarszczka, chomiki oraz zmarszczki marionetkowe wyniki mieszczą się w zakresie od 3,6 do 4,0. Rozkład oceny wyników przedstawiono na wykresie radarowym (ryc. 20).

Końcowa ocena obserwowanych efektów przedstawiona na histogramie wskazuje, że średni wynik oceny obserwowanych efektów po terapii wynosi $3,8 \pm 0,7$, a wyniki mieszczą się od 2,4 do 5 (ryc. 21).

Okolica miejsc twarzy w jakich obserwowane były efekty terapii



Ryc. 20. Ocena subiektywna efektów terapii poszczególnych miejsc twarzy w grupie badanej – wyniki średnie.



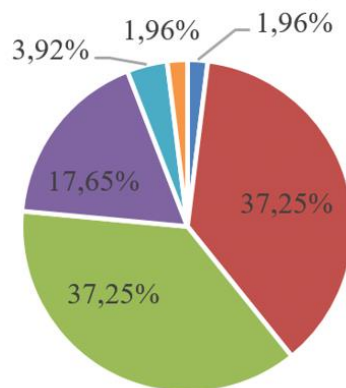
Ryc. 21. Ocena subiektywna całkowitego rezultatu - wyniki ankiety 3 miesiące po zakończeniu terapii.

Okres po jakim zauważono efekty po każdorazowej terapii przez ankietowane najczęściej był wskazywany po 2 tygodniach od zabiegu oraz po 1 miesiącu od zabiegu – po 37,2%. Poprawa po 1,5 miesiąca obserwowana była u 17,6%. Poprawa po 2 miesiącach u 3,9%, po 3 miesiącach u 2,0% (ryc. 22).

Pojawienie się podczas lub po zabiegu podrażnienia skóry wystąpiło łącznie u 54,9% (52,94% - rumień, a rumień/obrzęk u 2,0% badanych). Wykres przedstawiono na rycinie 23.

Czas wystąpienia zauważalnych efektów terapii

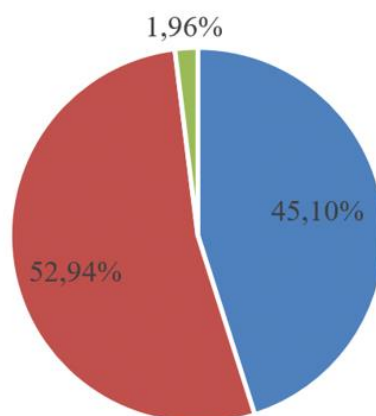
- utrzymuje się od razu po zabiegu ■ po 2 tygodniach od zabiegu
- po miesiącu od zabiegu ■ 1,5 miesiąca
- 2 miesiące ■ 3 miesiące



Ryc. 22. Moment zaobserwowania efektu terapii – badania ankietowe.

Wystąpienie podrażnienia skóry

- Brak podrażnień ■ Rumień ■ Rumień, Obrzęk



Ryc. 23. Wystąpienie podrażniania skóry podczas zabiegu lub po zabiegu - badania ankietowe.

9.2.3. OBIEKTYWNA OCENA SKUTECZNOŚCI TERAPII

9.2.3.1. WYNIKI BADAŃ - KORNEOMETRIA

W poniższym podpunkcie zebrano analizy dotyczące rezultatów uzyskanych dla korneometru. Wyniki w każdym przypadku porównywano przed zabiegami do rezultatów po zabiegach, obliczając dodatkowo różnice dla rezultatów. Badanie statystyczne było wykonane dla każdego z trzech zabiegów, które były przeprowadzane po lewej i prawej stronie twarzy. Przeprowadzona analiza statystyczna w każdym przypadku wskazuje, że po odbytej terapii występuje istotny na poziomie tendencji statystycznej wzrost wyników (tab. 9).

Początkowe wyniki dla badanych kobiet po stronie lewej wynosiły $61,8\% \pm 7,5\%$ z medianą 61%. W przypadku prawej strony twarzy rezultaty są nieznacznie wyższe i wynoszą $62,2\% \pm 7,9\%$ z medianą 61%.

Średni wzrost wyników po pierwszej terapii dla strony lewej wyniósł 7,9%, a dla mediany 8%, w przypadku strony prawej jest on tylko nieznacznie mniejszy i wynosi 6,1% z medianą 5%. Podczas kolejnego zabiegu następuje również wzrost wyników, gdzie obserwowany dla strony lewej wyniósł średnio 3,0% z medianą 2%, a dla strony prawej 2,7% z medianą 2%.

Podczas trzeciego zabiegu wyniki wzrosły po stronie lewej średnio o 2,6% i medianą 2%, a dla strony prawej 2,6% i o taką samą wartość mediany. Do przeprowadzenia porównań między poszczególnymi punktami czasowymi wykorzystano test Wilcoxona.

Tabela 8. Wyniki badania korneometrycznego z uwzględnieniem strony twarzy, analiza opisowa i statystyczna.

Test Wilcoxona

Zabieg	Badanie	N	$\bar{x}$	SD	Min	Q ₁	Me	Q ₃	Maks	Wynik testu	Wartość p
I Lewa strona	Przed zabiegiem	51	61,8 %	7,5%	37%	57%	61%	67%	79%	5,720	<0,001
	Po zabiegu	51	69,7 %	7,9%	50%	66%	69%	74%	87%		
	Różnice	51	7,9%	5,7%	-14%	4%	8%	12%	18%		
I	Przed zabiegiem	51	62,2 %	7,9%	35%	58%	61%	68%	80%	5,788	<0,001

Zabieg	Badanie	N	$\bar{x}$	SD	Min	Q ₁	Me	Q ₃	Maks	Wynik testu	Wartość p
Prawa strona	Po zabiegu	51	68,4 %	7,6%	42%	65%	69%	72%	83%		
	Różnice	51	6,1%	5,3%	-9%	2%	5%	11%	18%		
II Lewa strona	Przed zabiegiem	51	75,7 %	6,4%	61%	73%	77%	80%	87%	6,028	<0,001
	Po zabiegu	51	78,6 %	6,0%	60%	76%	79%	83%	89%		
	Różnice	51	3,0%	2,4%	-1%	1%	2%	4%	10%		
II Prawa strona	Przed zabiegiem	51	75,4 %	5,7%	61%	72%	76%	80%	86%	5,413	<0,001
	Po zabiegu	51	78,1 %	5,6%	64%	76%	79%	82%	88%		
	Różnice	51	2,7%	2,7%	-4%	1%	2%	4%	10%		
III Lewa strona	Przed zabiegiem	51	83,2 %	4,9%	74%	79%	84%	86%	92%	6,215	<0,001
	Po zabiegu	51	85,8 %	4,0%	77%	82%	86%	89%	93%		
	Różnice	51	2,6%	1,8%	0%	1%	2%	4%	9%		
III Prawa strona	Przed zabiegiem	51	83,3 %	4,5%	72%	79%	84%	87%	94%	6,215	<0,001
	Po zabiegu	51	86,0 %	3,7%	76%	84%	86%	89%	95%		
	Różnice	51	2,6%	1,7%	1%	1%	2%	3%	9%		
IV Wyniki końcowe	Lewa strona	51	90,3 %	3,1%	83%	89%	91%	93%	96%	-	-
	Prawa strona	51	90,9 %	2,9%	83%	90%	91%	93%	96%		

Dodatkowo w tabeli 10 przedstawiono analizę statystyczną wyników między I, II, III i IV badaniem. Porównania wykonywano oddzielnie dla strony prawej oraz lewej, uwzględniając rezultaty uzyskane każdorazowo zarówno przed zabiegiem, jak i po zabiegu.

W każdym z analizowanych przypadków można zauważyć istotny na poziomie tendencji statystycznej wzrost rezultatów pomiędzy poszczególnymi spotkaniami przed

zabiegami (dla strony lewej średnia rośnie od 61,8% do 90,3%, a mediany od 60,7% do 90,7%, w przypadku strony prawej od 62,2% do 90,9% oraz mediany od 61,3% do 91,3%).

Wzrost wyników obserwowany pomiędzy poszczególnymi spotkaniami wskazuje jednoznacznie, że proces terapeutyczny nie cofa się, a nawet rozwija się pomiędzy kolejnymi etapami.

Potwierdza ten efekt także obserwacja wykonana dla rezultatów uzyskiwanych po terapii. Również w tym przypadku pomiędzy poszczególnymi spotkaniami obserwuje się wzrost rezultatów (dla strony lewej od 69,7% do 90,3% dla średniej, a dla mediany od 69,3% do 90,7% a w przypadku strony prawej od 68,4% do 90,9% dla średniej i od 69,0% do 91,3% dla mediany). Przeprowadzone porównanie wykonano testem Friedmana.

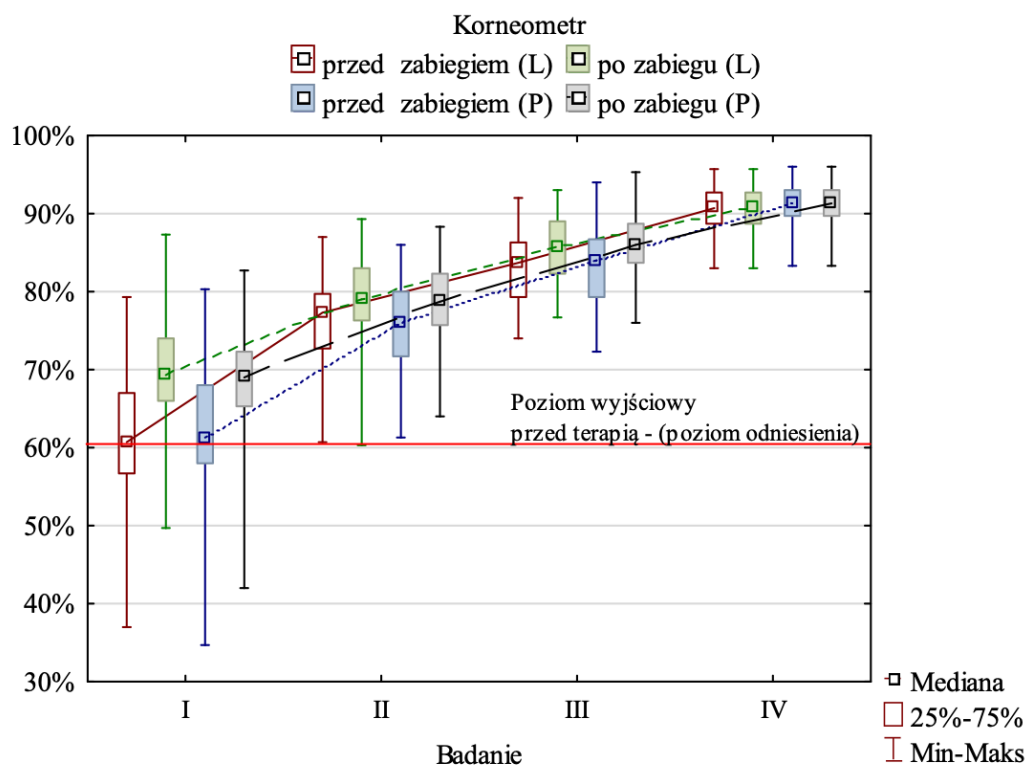
Tabela 9. Wyniki badania korneometrycznego z uwzględnieniem strony twarzy przed i po zabiegu, analiza opisowa i statystyczna.

Test Friedmana

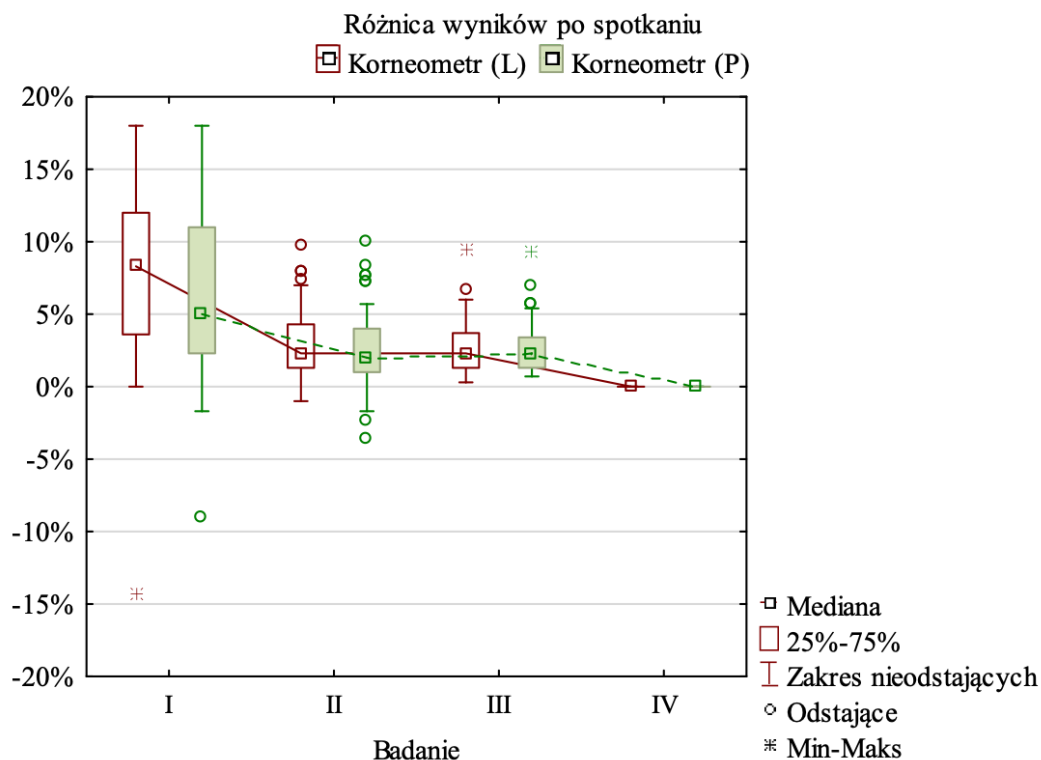
Spotkanie	Wyniki uzyskiwane przed terapią							
	Lewa strona			Wartość p	Prawa strona			Wartość p
	$\bar{x}$	SD	Me		$\bar{x}$	SD	Me	
I	61,8%	7,5%	60,7%	<0,001	62,2%	7,9%	61,3%	<0,001
II	75,7%	6,4%	77,3%		75,4%	5,7%	76,0%	
III	83,2%	4,9%	83,7%		83,3%	4,5%	84,0%	
IV	90,3%	3,1%	90,7%		90,9%	2,9%	91,3%	
Spotkanie	Wyniki uzyskiwane po terapii							
	Lewa strona			Wartość p	Prawa strona			Wartość p
	$\bar{x}$	SD	Me		$\bar{x}$	SD	Me	
I	69,7%	7,9%	69,3%	<0,001	68,4%	7,6%	69,0%	<0,001
II	78,6%	6,0%	79,0%		78,1%	5,6%	78,7%	
III	85,8%	4,0%	85,7%		86,0%	3,7%	86,0%	
IV	90,3%	3,1%	90,7%		90,9%	2,9%	91,3%	

Na rycinie 24 przedstawiono analizowane wartości bezwzględne uzyskane z korneometru przed i po zabiegu I, II, III oraz podczas IV pomiaru, uwzględniając lewą i prawą stronę twarzy. Przedstawione rezultaty na wykresie to wartości mediany oraz kwartyli i minima i maksima dla całej badanej grupy.

Na rycinie 25 zawarto rozkład rezultatów przedstawiający wyniki wielkości uzyskanych różnic po każdym z zabiegów. Analizowane wyniki zawierają wartości mediany oraz kwartyli i rezultaty odstające/ekstremalne (minima i maksima).



Ryc. 24. Wyniki korneometrii z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV.



Ryc. 25. Różnica wyników korneometrii z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV.

9.2.3.2. WYNIKI BADAŃ - KUTOMETRIA

Podobnie jak w przypadku korneometru, tak samo badania wykonane z wykorzystaniem kutometru wskazują w każdym przypadku dla porównań przed zabiegami do rezultatów po zabiegach różnice istotne.

Początkowe wyniki dla badanych kobiet po stronie lewej wynosiły $57,7\% \pm 5,5\%$ z medianą 58% . W przypadku prawej strony twarzy rezultaty są nieznacznie niższe i wynoszą $57,3\% \pm 5,9\%$ z medianą 56% .

Średni wzrost wyników po pierwszej terapii dla strony lewej wyniósł $6,2\%$, a dla mediany 5% , w przypadku strony prawej jest on tylko nieznacznie mniejszy i wynosi $5,7\%$ z medianą 6% . Podczas kolejnego zabiegu następuje również wzrost wyników, gdzie obserwowany dla strony lewej wyniósł średnio $3,5\%$ z medianą 3% , a dla strony prawej $3,9\%$ z medianą 3% .

Podczas trzeciego zabiegu wyniki wzrosły po stronie lewej średnio o $3,4\%$ i medianą 3% , a dla strony prawej $3,6\%$ i o taką samą wartość mediany. Do przeprowadzenia porównań między poszczególnymi punktami czasowymi wykorzystano test Wilcoxona.

Tabela 10. Wyniki badania kutometrycznego z uwzględnieniem strony twarzy, analiza opisowa i statystyczna.

Test Wilcoxona

Zabieg	Badanie	N	$\bar{x}$	SD	Min	Q ₁	Me	Q ₃	Maks	Wynik testu	Wartość p
I Lewa strona	Przed zabiegiem	51	57,7 %	5,5%	45%	53%	58%	61%	77%	6,130	<0,001
	Po zabiegu	51	63,9 %	6,2%	52%	61%	63%	68%	78%		
	Różnice	51	6,2%	4,5%	-1%	3%	5%	10%	20%		
I Prawa strona	Przed zabiegiem	51	57,3 %	5,9%	41%	54%	56%	62%	72%	5,666	<0,001
	Po zabiegu	51	62,9 %	5,4%	52%	59%	63%	67%	73%		
	Różnice	51	5,7%	4,8%	-5%	2%	6%	9%	19%		
II Lewa strona	Przed zabiegiem	51	70,8 %	6,6%	54%	67%	70%	76%	84%	6,046	<0,001
	Po zabiegu	51	74,3 %	6,7%	58%	70%	75%	80%	88%		
	Różnice	51	3,5%	2,6%	-2%	2%	3%	5%	10%		
II Prawa strona	Przed zabiegiem	51	70,6 %	6,4%	56%	67%	71%	75%	82%	6,186	<0,001
	Po zabiegu	51	74,5 %	6,2%	57%	71%	74%	79%	85%		
	Różnice	51	3,9%	2,3%	-1%	2%	3%	5%	10%		
III Lewa strona	Przed zabiegiem	51	81,5 %	4,3%	73%	78%	82%	84%	93%	6,154	<0,001
	Po zabiegu	51	84,9 %	3,3%	78%	82%	85%	87%	93%		
	Różnice	51	3,4%	2,6%	0%	2%	3%	5%	11%		
III Prawa strona	Przed zabiegiem	51	81,6 %	3,7%	75%	79%	82%	85%	88%	6,215	<0,001
	Po zabiegu	51	85,2 %	3,1%	76%	83%	85%	87%	93%		
	Różnice	51	3,6%	1,8%	1%	2%	3%	5%	8%		
IV Wyniki końcowe	Lewa strona	51	89,4 %	2,7%	84%	87%	90%	92%	93%	-	-
	Prawa strona	51	89,8 %	2,9%	84%	88%	91%	92%	94%		

Dodatkowo w tabeli 12 przedstawiono analizę statystyczną wyników między I, II, III i IV badaniem. Porównania wykonywano oddzielnie dla strony prawej oraz lewej, uwzględniając rezultaty uzyskane każdorazowo zarówno przed zabiegiem, jak i po zabiegu.

W każdym z analizowanych przypadków można zauważyć istotny na poziomie tendencji statystycznej wzrost rezultatów pomiędzy poszczególnymi spotkaniami przed zabiegami (dla strony lewej średnia rośnie od 57,7% do 89,4%, a mediany od 57,7% do 90,3%, w przypadku strony prawej od 57,3% do 89,8% oraz mediany od 56,3% do 91,0%).

Wzrost wyników obserwowany pomiędzy poszczególnymi spotkaniami wskazuje jednoznacznie, że proces terapeutyczny nie cofa się, a nawet rozwija się pomiędzy kolejnymi etapami.

Potwierdza ten efekt także obserwacja wykonana dla rezultatów uzyskiwanych po terapii. Również w tym przypadku pomiędzy poszczególnymi spotkaniami obserwuje się wzrost rezultatów (dla strony lewej od 63,9% do 89,4% dla średniej, a dla mediany od 63,3% do 90,3% a w przypadku strony prawej od 62,9% do 89,4% dla średnich i od 63,0% do 91,0% dla mediany). Przeprowadzone porównanie wykonano testem Friedmana.

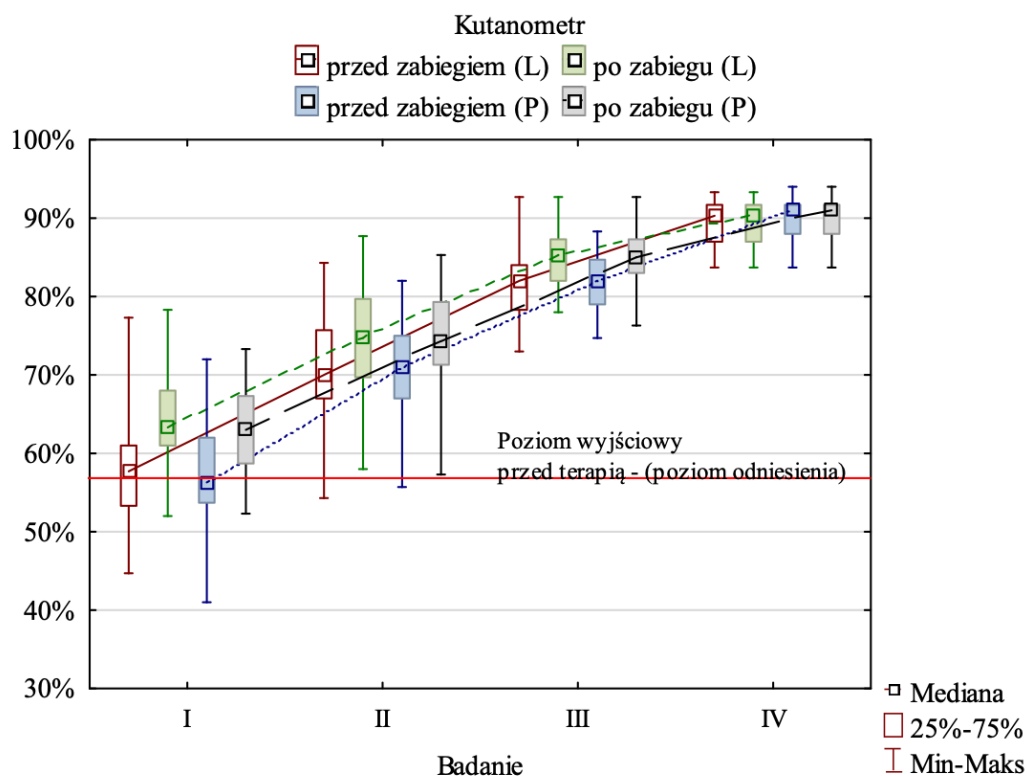
Tabela 11. Wyniki badania kutometrycznego z uwzględnieniem strony twarzy przed i po zabiegu, analiza opisowa i statystyczna.

Test Friedmana

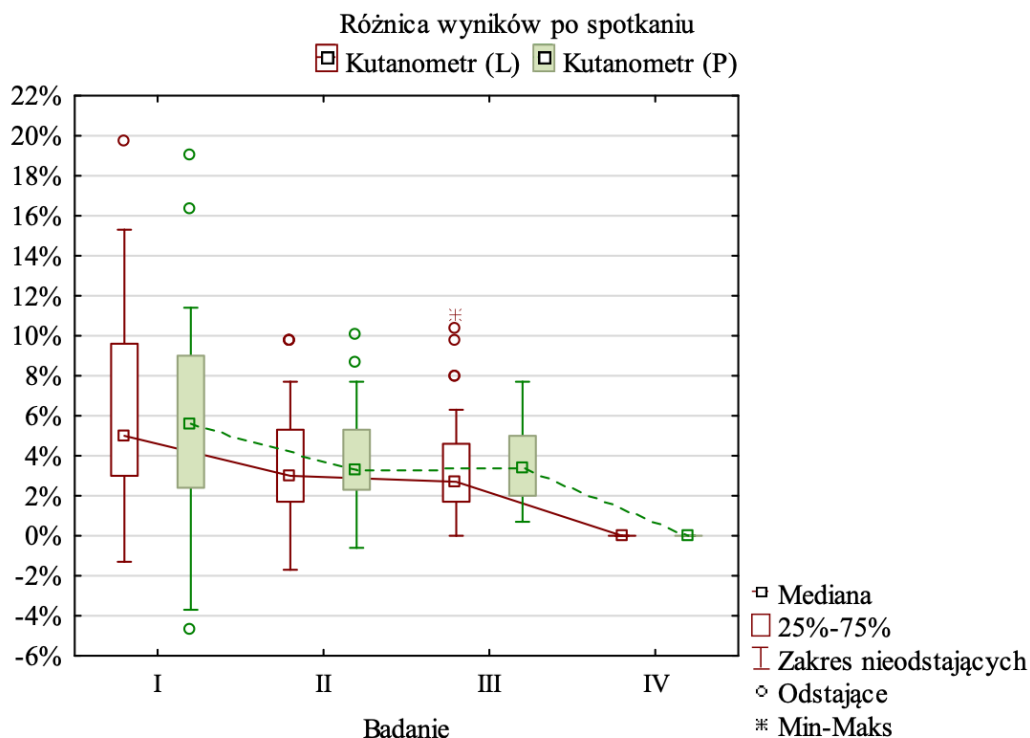
Spotkanie	Wyniki uzyskiwane przed terapią							
	Lewa strona			Wartość p	Prawa strona			Wartość p
	$\bar{x}$	SD	Me		$\bar{x}$	SD	Me	
I	57,7%	5,5%	57,7%	<0,001	57,3%	5,9%	56,3%	<0,001
II	70,8%	6,6%	70,0%		70,6%	6,4%	71,0%	
III	81,5%	4,3%	82,0%		81,6%	3,7%	82,0%	
IV	89,4%	2,7%	90,3%		89,8%	2,9%	91,0%	
Spotkanie	Wyniki uzyskiwane po terapii							
	Lewa strona			Wartość p	Prawa strona			Wartość p
	$\bar{x}$	SD	Me		$\bar{x}$	SD	Me	
I	63,9%	6,2%	63,3%	<0,001	62,9%	5,4%	63,0%	<0,001
II	74,3%	6,7%	74,7%		74,5%	6,2%	74,3%	
III	84,9%	3,3%	85,3%		85,2%	3,1%	85,0%	
IV	89,4%	2,7%	90,3%		89,8%	2,9%	91,0%	

Na rycinie 26 przedstawiono analizowane wartości bezwzględne uzyskane z kutometru przed i po zabiegu I, II, III oraz podczas IV pomiaru, uwzględniając lewą i prawą stronę twarzy. Przedstawione rezultaty na wykresie to wartości mediany oraz kwartyli i minima i maksima dla całej badanej grupy. Wyraźnie zaznaczają się wyższe rezultaty po każdej terapii w porównaniu do wartości początkowych i wyższe rezultaty między poszczególnymi terapiami.

Na rycinie 27 zawarto rozkład rezultatów przedstawiający wyniki wielkości uzyskanych różnic po każdym z zabiegów. Analizowane wyniki zawierają wartości mediany oraz kwartyli i rezultaty odstające/ekstremalne (minima i maksima).



Ryc. 26. Wyniki kutometrii z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV.



Ryc. 27. Różnica wyników kutometrii z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV.

9.2.3.3. WYNIKI BADAŃ - TEWAMETRIA

Podobnie jak w przypadku korneometru i kutometru, tak samo badania wykonane z wykorzystaniem TEWL wskazują w każdym przypadku dla porównań przed zabiegami do rezultatów po zabiegach różnice istotne.

Początkowe wyniki dla badanych kobiet po stronie lewej wynosiły $5,2 \pm 1,0$ z medianą 4,7. W przypadku prawej strony twarzy rezultaty są nieznacznie wyższe i wynoszą $5,5 \pm 1,2$ z medianą 5,3.

Średni spadek wyników po pierwszej terapii dla strony lewej wyniósł 0,8, a dla mediany 1,0, w przypadku strony prawej jest on tylko nieznacznie większy i wynosi 1,3 z medianą 1,3. Podczas drugiego zabiegu następuje również spadek wyników po terapii, gdzie obserwowany dla strony lewej wyniósł średnio 1,8 z medianą 1,7, a dla strony prawej 1,8 z medianą 2,0.

Podczas trzeciego zabiegu wyniki malały po stronie lewej średnio o 2,6 z medianą 2,7, a dla strony prawej o 2,5 i o 2,6 dla wartości mediany. Do przeprowadzenia porównań między poszczególnymi punktami czasowymi wykorzystano test Wilcoxon.

Tabela 12. Wyniki badania TEWL z uwzględnieniem strony twarzy, analiza opisowa i statystyczna.

Test Wilcoxona

Zabieg	Badanie	N	$\bar{x}$	SD	Min	Q ₁	Me	Q ₃	Mak s	Wynik testu	Wartość p
I Lewa strona	Przed zabiegiem	51	5,19	1,00	4,0	4,7	4,7	5,7	8,7	4,646	<0,001
	Po zabiegu	51	6,02	1,15	3,0	5,3	6,0	6,7	9,0		
	Różnice	51	0,83	1,17	-4,3	0,4	1,0	1,6	3,0		
I Prawa strona	Przed zabiegiem	51	5,55	1,19	4,0	5,0	5,3	6,0	9,3	6,172	<0,001
	Po zabiegu	51	6,89	1,36	4,7	6,3	6,7	7,3	12,0		
	Różnice	51	1,34	0,75	-0,4	1,0	1,3	1,7	3,0		
II Lewa strona	Przed zabiegiem	51	3,95	0,73	3,0	3,3	4,0	4,3	6,0	6,149	<0,001
	Po zabiegu	51	5,71	0,99	4,0	5,0	5,7	6,7	8,0		
	Różnice	51	1,76	1,04	-0,7	1,0	1,7	2,4	5,0		
II Prawa strona	Przed zabiegiem	51	4,31	0,93	3,0	3,7	4,3	4,7	7,7	6,215	<0,001
	Po zabiegu	51	6,16	0,98	3,7	5,7	6,3	7,0	8,7		
	Różnice	51	1,84	1,00	0,3	1,0	2,0	2,6	4,0		
III Lewa strona	Przed zabiegiem	51	3,06	0,60	2,0	2,7	3,0	3,3	4,7	6,215	<0,001
	Po zabiegu	51	5,68	0,97	3,7	5,0	6,0	6,3	7,7		
	Różnice	51	2,62	1,13	0,3	1,6	2,7	3,6	4,6		
III Prawa strona	Przed zabiegiem	51	3,25	0,63	2,0	2,7	3,3	3,7	5,7	6,068	<0,001
	Po zabiegu	51	5,71	1,11	3,0	5,0	5,7	6,3	8,0		
	Różnice	51	2,46	1,28	-0,7	1,6	2,6	3,0	5,3		
IV Wyniki końcow e	Lewa strona	51	2,79	0,43	2,0	2,7	2,7	3,0	3,7	-	-
	Prawa strona	51	2,80	0,48	2,0	2,3	2,7	3,0	3,7		

W tabeli 14 przedstawiono analizę statystyczną wyników między I, II, III i IV badaniem. Porównania wykonywano oddzielnie dla strony prawej oraz lewej, uwzględniając rezultaty uzyskane każdorazowo zarówno przed zabiegiem, jak i po zabiegu.

W każdym z analizowanych przypadków można zauważyć istotny na poziomie tendencji statystycznej spadek wyników rezultatów pomiędzy poszczególnymi spotkaniami przed zabiegami (dla strony lewej średnia spada od 5,2 do 2,8, a mediany od 4,7 do 2,7 w przypadku strony prawej od 5,5 do 2,8 oraz mediany od 5,3 do 2,7).

Spadek wyników obserwowany pomiędzy poszczególnymi spotkaniami wskazuje jednoznacznie, że proces terapeutyczny nie cofa się, a nawet rozwija się pomiędzy kolejnymi etapami.

Potwierdza ten efekt także obserwacja wykonana dla rezultatów uzyskiwanych po terapii. Również w tym przypadku pomiędzy poszczególnymi spotkaniami obserwuje się spadek rezultatów (dla strony lewej od 6,0 do 2,8 dla średniej, a dla mediany od 6,0 do 2,7, a w przypadku strony prawej od 6,9 do 2,8 dla średnich i od 6,7 do 2,7 dla mediany). Przeprowadzone porównanie wykonano testem Friedmana.

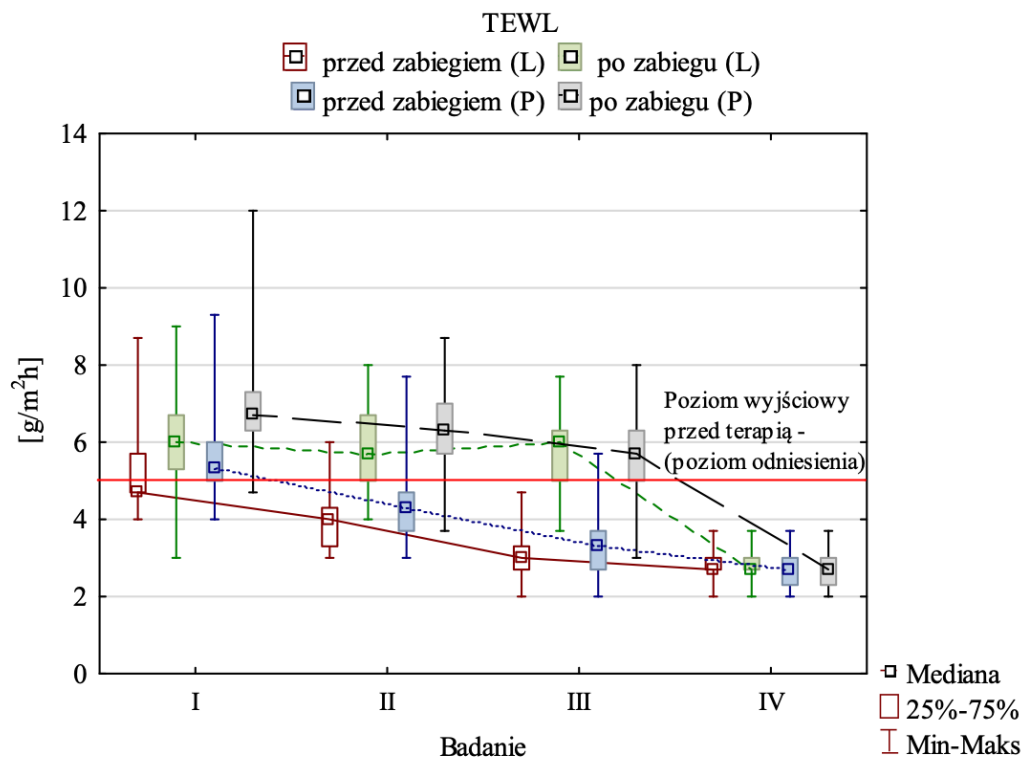
Tabela 13. Wyniki badania TEWL z uwzględnieniem strony twarzy przed i po zabiegu, analiza opisowa i statystyczna.

Test Friedmana

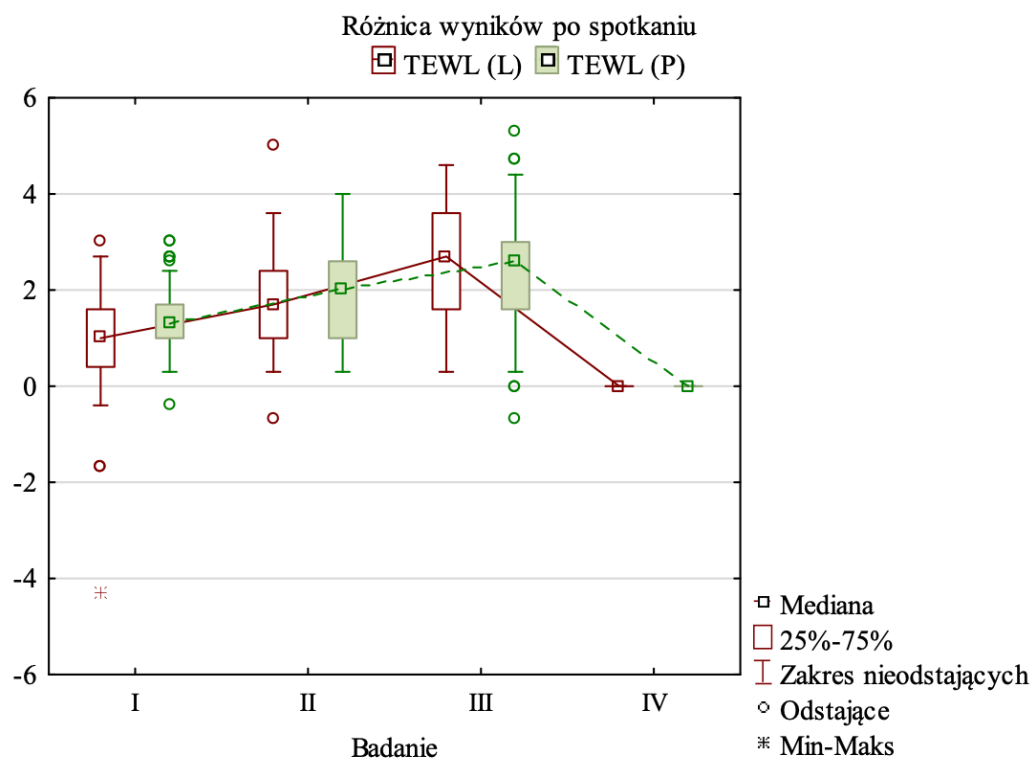
Spotkanie	Wyniki uzyskiwane przed terapią							
	Lewa strona			Wartość p	Prawa strona			Wartość p
	$\bar{x}$	SD	Me		$\bar{x}$	SD	Me	
I	5,19	1,00	4,70	<0,001	5,55	1,19	5,30	<0,001
II	3,95	0,73	4,00		4,31	0,93	4,30	
III	3,06	0,60	3,00		3,25	0,63	3,30	
IV	2,79	0,43	2,70		2,80	0,48	2,70	
Spotkanie	Wyniki uzyskiwane po terapii							
	Lewa strona			Wartość p	Prawa strona			Wartość p
	$\bar{x}$	SD	Me		$\bar{x}$	SD	Me	
I	6,02	1,15	6,00	<0,001	6,89	1,36	6,70	<0,001
II	5,71	0,99	5,70		6,16	0,98	6,30	
III	5,68	0,97	6,00		5,71	1,11	5,70	
IV	2,79	0,43	2,70		2,80	0,48	2,70	

Na rycinie 28 przedstawiono analizowane wartości bezwzględne uzyskane dla parametru TEWL przed i po zabiegu I, II, III oraz podczas IV pomiaru, uwzględniając lewą i prawą stronę twarzy. Przedstawione rezultaty na wykresie to wartości mediany oraz kwartyli i minima i maksima dla całej badanej grupy. Wyraźnie zaznaczają się niższe rezultaty po każdej terapii w porównaniu do wartości początkowych i wyższe rezultaty między poszczególnymi terapiami.

Na rycinie 29 zawarto rozkład rezultatów przedstawiający wyniki wielkości uzyskanych różnic po każdym z zabiegów. Analizowane wyniki zawierają wartości mediany oraz kwartyli i rezultaty odstające/ekstremalne (minima i maksima).



Ryc. 28. Wyniki TEWL z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV.



Ryc. 29. Różnica wyników TEWL z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV.

9.2.4. ANALIZA WYNIKÓW POD WZGLĘDEM CECH SOCJODEMOGRAFICZNYCH I KLINICZNYCH

W poniższym podpunkcie zawarto analizy statystyczne dotyczące określenia czynników wpływających na wyniki początkowe dla rezultatów otrzymywanych z korneometru i kutometru oraz dla wskaźnika TEWL. Ponadto, druga część analizy ma określić, jakie czynniki wpływają na wielkość uzyskiwanej bezwzględnej różnicy po zastosowanych terapiach (różnica między IV spotkaniem, a wynikami z spotkania I przed zabiegami), przed terapią i wielkości różnicy uzyskanych dla końcowych wyników.

9.2.4.1. ANALIZA WYNIKÓW BADAŃ OBIEKTYWNYCH WZGLĘDEM FOTOTYPU SKÓRY

W poniższym podpunkcie analizie statystycznej jako czynnika modyfikującego wyniki poddano fototyp skóry badanych osób. Przeprowadzona analiza statystyczna w tym względzie nie wskazała wystąpienia istotnych różnic dla wartości analizowanych przed terapią.

W przypadku analizy dla uzyskanych różnic po terapii wystąpiła różnica istotna jedynie w przypadku wskaźnika TEWL po prawej stronie. Osoby ze skórą o fototypie II uzyskiwały spadek tego wskaźnika średnio o - 2,4 z medianą - 2,3, gdzie osoby z fototypem skóry III/IV mają spadek wyników na poziomie około - 2,0 dla średniej oraz - 2,0 dla mediany. Dla przeprowadzonego porównania testem Manna - Whitney'ego uzyskano wartość $p = 0,011$. Całość analizy zawarto w tabeli 15.

Tabela 14. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i fototypu skóry - analiza opisowa i statystyczna.

Test Manna - Whitney`a

Parametr	II (n=40)			III/ IV (n=11)			dx	Wynik testu	Wartość p
	$\bar{x}$	SD	Me	$\bar{x}$	SD	Me			
Wyniki uzyskane przed zabiegami									
Korneometr - (L)	62%	7%	62%	60%	9%	61%	-2%	0,057	0,954
Korneometr - (P)	63%	7%	62%	59%	10%	60%	-4%	0,848	0,397
Kutometr - (L)	57%	5%	57%	60%	7%	59%	3%	-1,020	0,308
Kutometr - (P)	57%	5%	56%	58%	8%	59%	1%	-0,550	0,582
TEWL - (L) [g/m²h]	5,08	0,82	4,70	5,59	1,47	5,00	0,52	-0,737	0,461
TEWL - (P) [g/m²h]	5,49	1,16	5,30	5,76	1,34	5,70	0,27	-0,717	0,473
Różnice 3 miesiące po trzecim zabiegu w stosunku do wartości początkowych									
Korneometr - (L)	29%	7%	29%	28%	7%	28%	0%	-0,183	0,855
Korneometr - (P)	29%	8%	29%	28%	7%	32%	-1%	-0,195	0,846
Kutometr - (L)	32%	6%	32%	32%	5%	31%	0%	0,344	0,731
Kutometr - (P)	33%	7%	34%	32%	5%	33%	-1%	0,584	0,559
TEWL - (L) [g/m²h]	-2,44	1,00	-2,30	-2,25	1,02	-2,00	0,18	-1,133	0,257
TEWL - (P) [g/m²h]	-2,95	1,24	-2,85	-2,00	0,75	-2,00	0,95	-2,551	0,011

Na rycinach przedstawiono rezultaty terapeutyczne u wybranych respondentek, które wyraziły zgodę na publikację fotografii (załącznik nr 7).



Ryc. 30. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 57 letniej probantki.



Ryc. 31. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 58 letniej probantki.



Ryc. 32. Przed zabiegami (a), miesiąc po pierwszym zabiegu (b), 90 dni po drugim zabiegu (c), 90 dni po trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 41 letniej probantki.



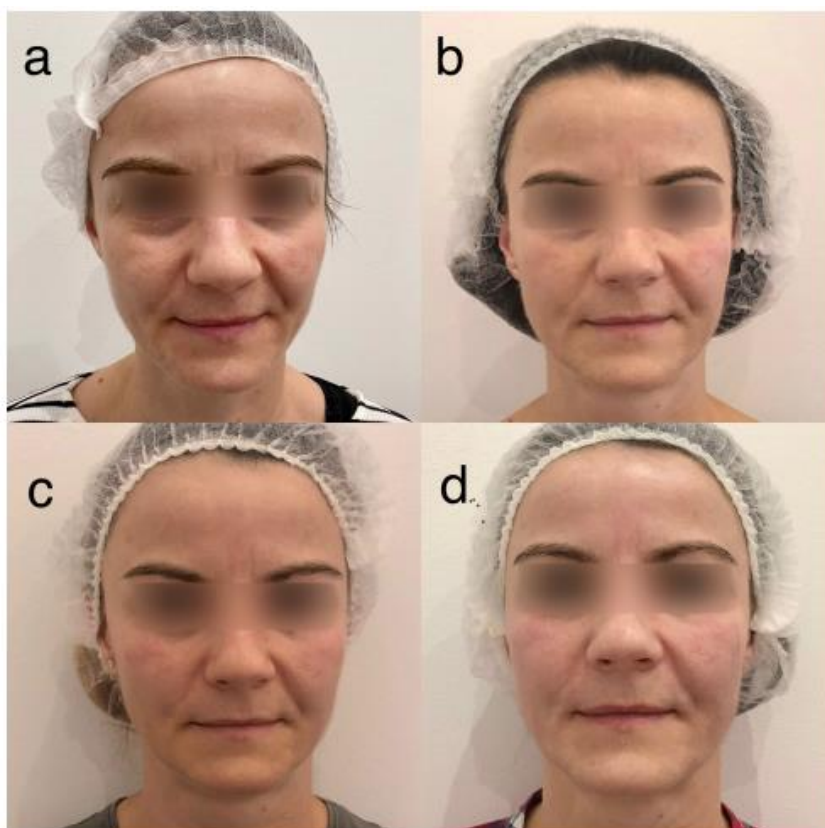
Ryc. 33. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 47 letniej probantki.



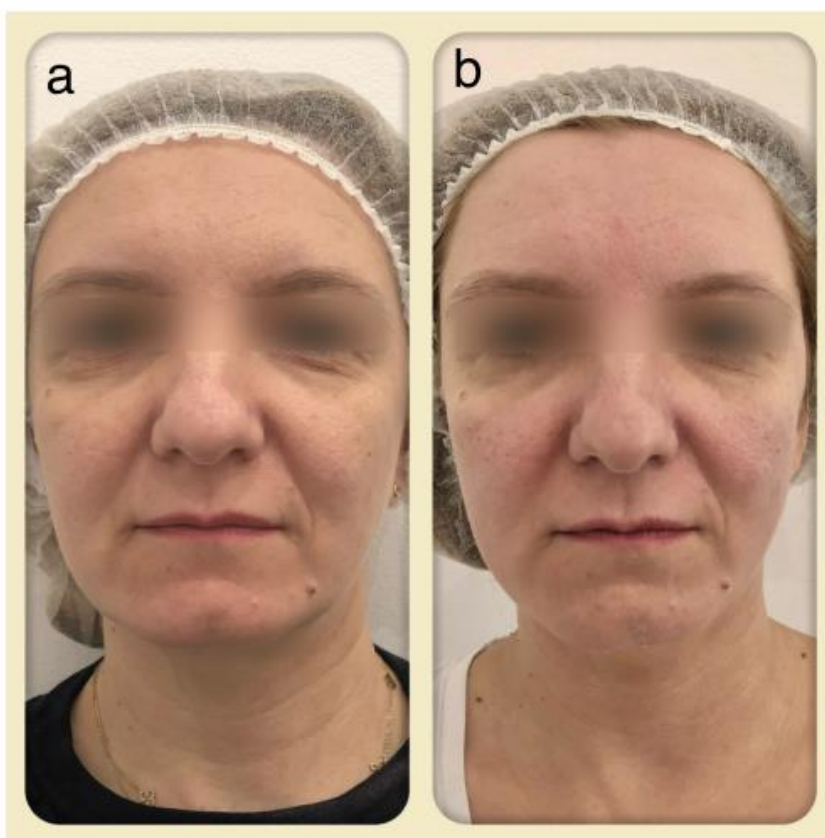
Ryc. 34. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 42 letniej probantki.



Ryc. 35. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 44 letniej probantki.



Ryc. 36. Przed zabiegami (a), miesiąc po pierwszym zabiegu (b), 90 dni po drugim zabiegu (c), 90 dni po trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 41 letniej probantki.



Ryc. 37. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 47 letniej probantki.



Ryc. 38. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 53 letniej probantki.



Ryc. 39. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 55 letniej probantki.



Ryc. 40. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 47 letniej probantki.

9.2.4.2. PORÓWNANIE WYNIKÓW BADAŃ OBIEKTYWNYCH Z UWZGLĘDNIENIEM WIEKU BADANYCH

Analiza korelacji wieku ankietowanych w stosunku do wartości uzyskiwanych dla korneometru, kutometru oraz wskaźnika TEWL analizowanych przed zabiegami wskazuje istotną statystycznie zależność jedynie w jednym przypadku. Pacjentce istotnie maleje wynik dla kutometru po stronie lewej wraz ze wzrostem wieku ($r = -0,379$; $p = 0,006$). Siła analizowanego dopasowania nie jest wysoka. W innych przypadkach istotnej zależności nie wykazano.

Analogiczna analiza przeprowadzona w zakresie korelacji wieku badanych w stosunku do wielkości różnic, jaką ankietowane uzyskiwały po przeprowadzonych zabiegach w żadnym

przypadku nie wskazuje istotnego związku w stosunku do wieku ankietowanych osób. Wyniki analizy korelacji zawarto w tabeli 16.

Tabela 15. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i wieku badanych - analiza opisowa i statystyczna.

Test korelacji rang Spearmana

Parametr	Liczność N	Wskaźnik korelacji R	Wynik testu t(N-2)	Wartość p
Wyniki uzyskane przed zabiegami				
Korneometr - (L)	51	-0,149	-1,057	0,296
Korneometr - (P)	51	-0,086	-0,608	0,546
Kutometr - (L)	51	-0,379	-2,863	0,006
Kutometr - (P)	51	-0,281	-2,048	0,046
TEWL - (L) [g/m ² h]	51	-0,111	-0,781	0,439
TEWL - (P) [g/m ² h]	51	-0,254	-1,836	0,072
Różnice 3 miesiące po trzecim zabiegu w stosunku do wartości początkowych				
Korneometr - (L)	51	0,089	0,622	0,537
Korneometr - (P)	51	0,126	0,892	0,377
Kutometr - (L)	51	-0,050	-0,347	0,730
Kutometr - (P)	51	0,119	0,839	0,405
TEWL - (L) [g/m ² h]	51	-0,166	-1,176	0,245
TEWL - (P) [g/m ² h]	51	-0,020	-0,137	0,892

9.2.4.3. ANALIZA WYNIKÓW BADAŃ OBIEKTYWNYCH Z UWZGLĘDNIENIEM PRZYCZYNY PRZESUSZANIA SKÓRY

Analiza statystyczna między grupami utworzonymi na podstawie przyczyn przesuszania skóry (czynniki wrodzone vs. czynniki nabyte) w żadnym z analizowanych przypadków przed zastosowanymi zabiegami nie wskazuje na występowanie istotnych różnic, także dla analiz prowadzonych w zakresie wielkości uzyskiwanych różnic po terapii.

Dla przeprowadzonego porównania między grupami wykorzystano test Manna - Whiotney`a, a całość analizy zawarto w tabeli 17.

Tabela 16. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i przyczyn przesuszenia skóry - analiza opisowa i statystyczna.

Test Manna - Whitney`a

Parametr	nabyta (n=42)			wrodzona (n=9)			dx	Wynik testu	Wartość p
	$\bar{x}$	SD	Me	$\bar{x}$	SD	Me			
Wyniki uzyskane przed zabiegami									
Korneometr - (L)	62%	8%	62%	61%	6%	58%	-1%	0,482	0,630
Korneometr - (P)	63%	8%	62%	60%	8%	60%	-2%	1,063	0,288
Kutometr - (L)	58%	6%	58%	57%	5%	55%	-1%	0,655	0,512
Kutometr - (P)	57%	6%	56%	60%	4%	62%	3%	-1,682	0,093
TEWL - (L) [g/m²h]	5,13	0,99	4,70	5,44	1,08	5,00	0,31	-0,808	0,419
TEWL - (P) [g/m²h]	5,44	1,04	5,30	6,04	1,76	5,70	0,60	-0,661	0,508
Różnice 3 miesiące po trzecim zabiegu w stosunku do wartości początkowych									
Korneometr - (L)	28%	8%	28%	31%	5%	31%	3%	-1,347	0,178
Korneometr - (P)	28%	8%	29%	31%	5%	31%	2%	-1,236	0,217
Kutometr - (L)	32%	5%	32%	32%	7%	36%	1%	-1,087	0,277
Kutometr - (P)	32%	6%	33%	33%	6%	35%	1%	-0,519	0,604
TEWL - (L) [g/m²h]	-2,43	1,07	-2,30	-2,23	0,57	-2,00	0,20	-0,012	0,990
TEWL - (P) [g/m²h]	-2,65	1,28	-2,40	-3,20	0,75	-3,40	-0,55	1,946	0,052

9.2.4.4. PORÓWNANIE WYNIKÓW BADAŃ OBIEKTYWNYCH Z UWZGLĘDNIENIEM OKRESU WYSTĘPOWANIA PRZESUSZENIA SKÓRY

Analiza korelacji okresu występowania przesuszenia skóry w stosunku do wartości uzyskiwanych dla korneometru, kutometru oraz wskaźnika TEWL analizowanych przed zabiegami wskazuje istotną statystycznie zależność jedynie w jednym przypadku. Pacjentkom istotnie rosną wyniki dla kutometru po stronie prawej wraz ze wzrostem okresu trwania przesuszenia skóry ($r = 0,338$; $p = 0,025$). Siła analizowanego dopasowania jest na niskim poziomie. W innych przypadkach istotnej zależności nie wykazano.

Analogiczna analiza przeprowadzona dla wielkości różnic, jaką ankietowane uzyskiwały po przeprowadzonych zabiegach w żadnym przypadku nie wskazuje istotnego związku. Wyniki analizy korelacji zawarto w tabeli 18, a do porównań wykorzystano test korelacji rang Spearmana.

Tabela 17. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i okresu występowania przesuszenia skóry - analiza opisowa i statystyczna.

Test korelacji rang Spearmana

Parametr	Liczność N	Wskaźnik korelacji R	Wynik testu t(N-2)	Wartość p
Wyniki uzyskane przed zabiegami				
Korneometr - (L)	44	0,015	0,096	0,924
Korneometr - (P)	44	-0,080	-0,519	0,607
Kutometr - (L)	44	0,082	0,535	0,596
Kutometr - (P)	44	0,338	2,328	0,025
TEWL - (L) [g/m ² h]	44	0,197	1,300	0,201
TEWL - (P) [g/m ² h]	44	-0,019	-0,123	0,903
Różnice 3 miesiące po trzecim zabiegu w stosunku do wartości początkowych				
Korneometr - (L)	44	0,107	0,695	0,491
Korneometr - (P)	44	0,073	0,475	0,638
Kutometr - (L)	44	-0,021	-0,133	0,894
Kutometr - (P)	44	0,054	0,350	0,728
TEWL - (L) [g/m ² h]	44	0,031	0,204	0,839
TEWL - (P) [g/m ² h]	44	-0,105	-0,681	0,499

**9.2.4.5. PORÓWNANIE WYNIKÓW DOTYCZĄCYCH BADAŃ OBIEKTYWNYCH ZE
WZGLĘDU NA WYSTĘPOWANIE MENOPAUY**

Respondentki będące przed menopauzą posiadają istotnie wyższe wyniki dla parametru kutometru i TEWL po prawej stronie w porównaniu do kobiet, które wskazują, że są w trakcie lub po okresie menopauzy.

W przypadku kutometru różnica między wynikami wynosi 3% (istotnie większe wyniki po stronie kobiet, które nie przechodziły menopauzy 58%± 6% z medianą 58%, gdzie pacjentki po menopauzie mają wyniki 55%± 6% z medianą 58%), dla przeprowadzonego porównania wartość p=0,026.

W przypadku wskaźnika TEWL kobiety przed menopauzą mają średnio o 0,8 wyższy wskaźnik TEWL (wynik $5,8 \pm 1,3$ z medianą 5,7 vs. $5,0 \pm 0,8$ z medianą 5,0), dla przeprowadzonego porównania wartość $p = 0,028$.

Analiza statystyczna dla wielkości uzyskanych różnic na koniec terapii w żadnym z przypadków nie wskazuje na wystąpienie istotnych różnic. Wszystkie porównania przeprowadzono testem Manna - Whitney`a, a wyniki opisowe i statystyczne dla porównywanych grup zawarto w tabeli 19.

Tabela 18. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i menopauzy - analiza opisowa i statystyczna.

Test Manna - Whitney`a

Parametr	W trakcie lub po menopauzie (n=17)			Nie (n=34)			dx	Wynik testu	Wartość p
	$\bar{x}$	SD	Me	$\bar{x}$	SD	Me			
Wyniki uzyskane przed zabiegami									
Korneometr - (L)	62%	9%	61%	61%	7%	62%	-1%	0,150	0,881
Korneometr - (P)	64%	8%	63%	61%	8%	61%	-3%	-1,219	0,223
Kutometr - (L)	55%	5%	54%	59%	6%	58%	4%	1,930	0,054
Kutometr - (P)	55%	6%	54%	58%	6%	58%	3%	2,220	0,026
TEWL - (L) [g/m²h]	5,16	1,18	4,70	5,20	0,92	5,00	0,04	0,807	0,420
TEWL - (P) [g/m²h]	5,04	0,80	5,00	5,80	1,29	5,70	0,76	2,200	0,028
Różnice 3 miesiące po trzecim zabiegu w stosunku do wartości początkowych									
Korneometr - (L)	27%	6%	28%	29%	8%	29%	3%	1,069	0,285
Korneometr - (P)	28%	6%	30%	29%	8%	29%	1%	0,410	0,682
Kutometr - (L)	32%	3%	32%	32%	6%	32%	0%	0,440	0,660
Kutometr - (P)	32%	6%	34%	33%	7%	33%	0%	-0,130	0,897
TEWL - (L) [g/m²h]	-2,34	0,91	-2,40	-2,43	1,05	-2,00	-0,09	0,363	0,717
TEWL - (P) [g/m²h]	-2,65	1,51	-2,40	-2,79	1,05	-2,70	-0,14	-0,822	0,411

10. DYSKUSJA

Odmładzanie twarzy jest nauką, która koncentruje się na zastosowaniu szerokiej gamy technologii aparaturowych, zarówno ablacyjnych, jak i nieablacyjnych w celu uzyskania jak najbardziej imponujących i trwałych rezultatów. W dużym stopniu popularne w przeszłości ablacyjne laserowe techniki resurfacingu zmniejszyły obecnie swoją atrakcyjność wobec występującego ryzyka powikłań, czasu rekonwalescencji oraz unikania ekspozycji na czynnik UV.

W związku z powyższym, aktualnie rośnie zainteresowanie szerokim spektrum nieablacyjnych zabiegów w aspekcie odmładzania skóry. Wśród nieinwazyjnych procedur terapii anti - aging technologia radiofrekwencji jest najczęściej stosowana. Nie brakuje jej wsparcia doświadczalnego, potwierdzającego ugruntowaną skuteczność tej technologii w walce z upływem czasu. Istnieje transformacja danych eksperymentalnych sugerujących, iż szlaki aktywacji terapią radiofrekwencji przyczyniają się nie tylko do syntezy nowych włókien kolagenowych i elastynowych, ale także mukopolisacharydów. A metody skojarzone dodatkowo wzmacniają i umożliwiają uzyskiwanie jeszcze mocniejszych i trwalszych efektów terapeutycznych.

Dlatego celem tej pracy było przebadanie i analiza profilu skuteczności oraz trwałości wieloźródłowej technologii w postaci unikalnej konfiguracji radiofrekwencji monopolarnej oraz elektroporacji. Pomimo szerokiego profilu zastosowania zarówno w dermatologii estetycznej, jak również kosmologii radiofrekwencji w postaci synergii z innymi technologiami, potwierdzone naukowo dowody na skuteczność skojarzenia fali radiowej wraz z elektroporacją są trudno dostępne. Dotychczas nie opisano jednoznacznie w literaturze recenzowanej efektywności tych dwóch metod w konfiguracji łączonej.

Próbowano zatem w ramach części badawczej poniższej rozprawy odpowiedzieć na pytanie czy synergia dwóch technologii w postaci radiofrekwencji monopolarnej i elektroporacji faktycznie bardziej skutecznie wpływa na nawilżenie, elastyczność i szczelność warstwy rogowej naskórka oraz wydłuża czas utrzymywania się tychże rezultatów.

W niniejszej pracy subiektywna ocena skuteczności terapii radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją była zapisywana przez ankietowane w skali od 0 (brak poprawy) do 5 (bardzo duży efekt) w zakresie takich czynników, jak uelastycznienie, nawilżenie, świetlistość oraz jędrność. Najwyżej ocenianym został ostatni parametr – 4,0 dla wartości średniej. Tworząc końcowy wskaźnik oceny subiektywnej po serii zabiegów uzyskano

końcową wartość wynoszącą $3,3 \pm 0,6$, a zakres wyników mieścił się od 2 do 5, co odzwierciedla pozytywną ocenę estetycznego wyglądu skóry przez probantki. Żadna nie wykazała niezadowolenia z rezultatów przeprowadzanych zabiegów.

Okres, po jakim najczęściej zauważono efekty terapii przez respondentki był wskazywany po 2 tygodniach od każdorazowego zabiegu oraz po 1 miesiącu od każdorazowego zabiegu – po 37,2%. Natomiast wystąpienie podczas lub po zabiegu odczynu skóry wystąpiło łącznie u 54,9% badanych (52,9% - rumień, a rumień/obrzęk u 2,0 % badanych). Nie zaobserwowano dyspigmentacji pozapalnej, powstawania pęcherzy ani blizn.

W każdym z analizowanych przypadków można zauważyć istotny na poziomie tendencji statystycznej wzrost obiektywnej oceny wyników pomiędzy poszczególnymi badanymi, zarówno w zakresie pomiarów korneometrycznych, jak i kutometrycznych oraz istotny na poziomie tendencji statystycznej spadek wyników tewametrycznych.

Wyniki dla korneometru przed terapią i uzyskane po 3 miesiącach od ostatniego z 3 wykonywanych zabiegów dla strony lewej obejmują średni wzrost od 61,8% do 90,3% a mediany od 60,7% do 90,7%, w przypadku strony prawej od 62,2% do 90,9% oraz mediany od 61,3% do 91,3%. Podobnie rozkładają się pomiary kutometrem, wskazując na średni wzrost wyników przed i po serii zabiegów dla strony lewej od 57,7% do 89,4% a mediany od 57,7% do 90,3%, dla strony prawej od 57,3% do 89,8% oraz mediany od 56,3% do 91,0%. Względem wartości TEWL można natomiast zaobserwować pożądaną spadek wyników pomiarów przed i po całej terapii, dla strony lewej od 5,2 do 2,8 a mediany od 4,7 do 2,7, w przypadku strony prawej od 5,5 do 2,8 oraz mediany od 5,3 do 2,7.

Wzrost wyników korneometru i kutometru oraz spadek wyników tewametrycznych obserwowany pomiędzy poszczególnymi spotkaniami wskazuje jednoznacznie, że proces terapeutyczny nie cofa się, a nawet rozwija pomiędzy kolejnymi etapami.

Ponadto, przeprowadzono analizę wyników względem cech socjodemograficznych i klinicznych celem określenia, jakie czynniki wpływają na wielkość uzyskiwanej bezwzględnej różnicy po zastosowanych terapiach (różnica między IV badaniem a wynikami z spotkania I przed zabiegami). Porównanie zrealizowano dla typu skóry, pod kątem obecności menopauzy, względem wieku badanych, przyczyny i okresu występowania przesuszenia skóry. Analiza statystyczna dla wielkości uzyskanych różnic na koniec terapii w żadnym z przypadków nie wskazała na wystąpienie istotnych różnic. Taki wynik świadczy o niezależnej względem tych czynników skuteczności i trwałości prowadzonej synergistycznej terapii radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją.

Podstawowa kwestia we wszystkich badaniach nad nieablacyjnym odmładzaniem skóry dotyczy metodologii, ponieważ istnieje niewiele standardowych i obiektywnych analiz do oceny stopnia elastyczności, nawodnienia i nawilżenia skóry. Wyniki kliniczne zależą ostatecznie od subiektywnych obserwacji terapeutów i respondentów. Udowodniono również, że dokumentacja fotograficzna jest niewystarczającym sposobem na przedstawienie jakości i skuteczności leczenia [143]. W związku z powyższym, w tym badaniu starano się wartość badań klinicznych umocnić w kontekście obiektywnych, instrumentalnych metod pomiaru skóry i oceny wpływu monopolarnego RF z elektroporacją na skórę w procesach anti - aging. Dokonano tego za pomocą technik korneometrii, kutometrii i tewametрії. Ponadto, badania zostały uzupełnione subiektywną ankietą uczestniczek oraz zdjęciami przed i po przeprowadzonych zabiegach z zastosowaniem identycznych ustawień aparatu, oświetlenia i ułożenia probantki.

Technologia monopolarnego RF została zatwierdzona przez Food and Drug Administration w 2002 roku w zakresie nieablacyjnej terapii zmarszczek i napięcia skóry oraz do opracowywania całej twarzy w 2004 roku. Przeprowadzono wiele badań na ten temat. Jednakże większość z nich nie jest próbami klinicznymi o dobrej jakości metodologicznej, co uniemożliwia podejmowanie obiektywnych porównań oraz oceny dotyczącej skuteczności i faktycznej roli RF w niwelowaniu zmarszczek i zwiotczenia skóry [103].

Jednymi z takich badań, wnoszącymi wartość subiektywną uczestników oraz analizę fotografii stanowią badania Taub i zespołu, które obejmowały siedemnastu pacjentów leczonych 4 - MHz monopolarnym RF (Pellevé, Ellman International, Inc, Oceanside, NY). Łącznie zaplanowano 6 zabiegów w następujący sposób: 1 zabieg był wykonywany co 15 dni przez 2 kolejne sesje, 1 zabieg co miesiąc przez 2 kolejne sesje oraz 1 zabieg co 2 miesiące przez 2 kolejne sesje. Po dwóch tygodniach od zabiegu pacjenci odnotowali ogólną średnią poprawę od 25% do 30%. Tuż przed ostatnim lub szóstym leczeniem lekarz odnotował poprawę średnio o 50%, przy czym pacjenci oceniali średnią samoocenę na 48%. Lekarz prowadzący leczenie ocenił rezultat końcowy średnio na 46% w stosunku do stanu wyjściowego, podczas gdy pacjenci ocenili poprawę średnio na 30% w stosunku do stanu wyjściowego po 1 roku od rozpoczęcia leczenia. Uczestnicy uznali to leczenie za bardzo dobrze tolerowane, z minimalnym lub zerowym dyskomfortem oraz bez przestojów i znaczących efektów ubocznych [124]. Podobny charakter badań przeprowadzili Jaffary wraz z zespołem przy użyciu Accent RF (Accent, Alma Lasers™ US 2007, tryb monopolarny lub bipolarny), wykonując 4 cotygodniowe sesje w co najmniej jednym anatomicznym obszarze twarzy w grupie 45 kobiet. Dla wszystkich obszarów twarzy wykonano 5 - 6 przejść po 30 sekund,

z wyjątkiem obszaru okołoczołowego, który był ograniczony do 4 przejść. Poprawę zmarszczek ocenili trzej lekarze porównując zdjęcia 6 miesięcy po zakończonej terapii ze zdjęciami sprzed leczenia. Ponadto, zadowolenie pacjentów oceniono po 1 i 6 miesiącach od ostatniej sesji leczenia. Pod względem zadowolenia pacjentek miesiąc po ostatnim leczeniu 8,9% kobiet zadeklarowało niezadowolenie, 53,3% było w jakiś sposób zadowolonych, 33,3% było zadowolonych, a 4,4% było bardzo zadowolonych. Po 6 miesiącach satysfakcja uczestniczek była następująca: 4,4% niezadowolona, 31,1% w jakiś sposób zadowolona, 46,7% zadowolona i 17,8% bardzo zadowolona. Zadowolenie pacjentek 6 miesięcy po ostatnim leczeniu było znacznie wyższe niż 1 miesiąc po leczeniu ($p = 0,006$). Po 6 miesiącach zadowolenie probantek nie przekroczyło 75% w żadnym z obszarów twarzy. Z kolei w ocenie lekarzy po zakończeniu badania poprawa nie wyniosła więcej niż 50% ani w obszarze policzków, ani w obszarach okołoczołowych i czołowych. Dużo lepsze rezultaty odnotowali w podobnym projekcie Friedman i wsp., określając 26 - 50% poprawę zmarszczek u 96% uczestników oraz > 75% poprawę u 19% pacjentów. W okolicy policzka 42% pacjentów osiągnęło 51 - 75%, a 17% ponad 75% poprawę w zakresie redukcji zmarszczek [171]. Również dokumentację fotograficzną oraz ankietę jako ocenę badań klinicznych w zakresie radiofrekwencji zastosował Migliardi wraz z zespołem. Badanie obejmowało 30 kobiet rasy białej, w wieku od 35 do 65 lat, losowo podzielonych na 3 grupy. Najbardziej istotna względem niniejszej pracy była grupa 1, której zabieg dotyczył wyłącznie monopolarnej technologii Rf, 4MHz (Surgitron Dual Frequency) i która została objęta serią 5 zabiegów, 1 zabieg co 10 dni. Poprawa tekstury skóry 60 dni po ostatnim zabiegu: 40% pacjentów było bardzo zadowolonych, a 60% było zadowolonych. Redukcja zmarszczek 60 dni po ostatnim leczeniu: 10% pacjentów było bardzo zadowolonych, 40% było zadowolonych, a 50% było nieco zadowolonych. Poprawa jędrności sześćdziesiąt dni po ostatnim leczeniu: 40% pacjentów było bardzo zadowolonych, a 60% było zadowolonych. Globalna i subiektywna satysfakcja 60 dni po ostatnim leczeniu: 30% pacjentów było bardzo zadowolonych, a 70% było zadowolonych [103]. Podobnie swoje badania monitorowali Ozal i wsp, gdzie objęto 42 pacjentów w wieku od 34 do 67 lat. Wszyscy probanci zostali poddani badaniu jednej sesji monopolarnego RF (Thermage CPT, Solta Medical, Hayward, CA, USA) i byli monitorowani przez okres 6 miesięcy. Pacjenci byli fotografowani aparatem cyfrowym przed i 6 miesięcy po zabiegu. Przed i po zabiegu określano stopień obwisłości twarzy za pomocą skali luźności skóry Merz (MSLS). Zgodnie z MSLS poziom zwiotczenia skóry podzielono na 5 grup: brak, łagodny, umiarkowany, ciężki i bardzo ciężki. Poziomy zadowolenia pacjentów podzielono na następujące kategorie: niezadowoleni, minimalnie, dobrze i doskonale zadowoleni. Po leczeniu

RF średnia ocena MSLS spadła z $2,60 \pm 0,80$ do $1,86 \pm 0,87$. Zmniejszenie zwiotczenia skóry po leczeniu było istotne statystycznie ($p=0,0001173$). Zadowolenie pacjentów było skorelowane z odpowiedzią na leczenie ($p=3,7 \times 10^{-7}$) [136].

Przeprowadzone zostały także badania skuteczności zabiegów z wykorzystaniem fal radiowych w oparciu tylko o ankietę. Fijałkowska i zespół przeprowadzili badania ankietowe w grupie 50 kobiet w wieku 23 - 56 lat, przy średniej wieku wynoszącej 35 lat. Czternaście respondentek skorzystało z 3 zabiegów, natomiast dwanaście kobiet miało wykonane 5 zabiegów i tyle samo 7 zabiegów. Ponad połowa badanych (52%) zaobserwowała rezultat po trzecim zabiegu, zaś 32% po piątym. Natomiast widoczny efekt po pierwszym zabiegu zaobserwowało jedynie 16% ochotniczek. Ogólna satysfakcja z przeprowadzonych zabiegów dotyczyła 66% badanych, niezadowolenie z osiągniętych rezultatów wyraziło z kolei 16% respondentek, a 18% nie miało zdania w tym temacie. U 36% uczestniczek efekty zabiegów utrzymały się w zakresie dwóch miesięcy, u 32% - 3 miesięcy. Z kolei 22% (jedna piąta ankietowanych) obserwowała rezultaty powyżej sześciu miesięcy, natomiast 10% tylko w skali miesiąca. Z kolei Macierzyńska i Pierzchała w swoich badaniach obejmujących wpływ fal elektromagnetycznych o wysokiej częstotliwości na poprawę elastyczności skóry twarzy wykazały jej wzrost u wszystkich badanych osób. Zabiegi obejmowały 30 ochotników i wykonywane były na okolicę oczu, czoła, dolną część twarzy do linii żuchwy oraz podbródek [124].

W niniejszej pracy satysfakcja respondentek była podobna lub wyższa do przedstawionych powyżej badań - żadna nie wykazała niezadowolenia, a jędrność została oceniona na 4,0 dla wartości średniej w skali od 0 do 5. Wszystkie badane zgłosiły również widoczny rezultat już po pierwszym z trzech zabiegów.

Jednym z głównych problemów dotyczących badań klinicznych skierowanych względem radiofrekwencji i dotyczących szeroko rozumianego odmłodzenia skóry jest brak przyjętej normy dotyczącej dokładnej oceny i analizy stopnia uzyskanych rezultatów. Wiele badań sugeruje skuteczność różnych rodzajów urządzeń estetycznych, jednakże badania te nie obejmują wystarczająco obiektywnej oceny. Konwencjonalne analizy i obliczenia z wykorzystaniem fotografii są szeroko stosowane w wielu badaniach, aczkolwiek nie zapewniają dokładnej, obiektywnej i w pełni rzeczowej oceny.

Wykraczając poza analizę zdjęć ocenę badań skierowanych pod kątem skuteczności radiofrekwencji zastosował Tanaka wraz z zespołem, wykorzystując system fotograficzny 3D do ilościowej oceny wielkości zmiany w zakresie objętości skóry po leczeniu (kamera Canfield Scientific Vectra i system oprogramowania) - obrazowanie 3D stanowi skuteczne narzędzie

komunikacji wizualnej do analizy napięcia skóry. W badaniu wzięło udział dwudziestu japońskich ochotników (18 kobiet i 2 mężczyzn) w wieku od 26 do 69 lat (średni wiek $42,4 \pm 9,92$ lat). Przeprowadzono trzy sesje leczenia z 1 - tygodniową przerwą między zabiegami z wykorzystaniem urządzenia RF, 1MHz EndyMed PROTM (Endymed Medical, Cesarea, Izrael). Średnie zmniejszenie objętości zmierzone podczas ostatniej wizyty po leczeniu wyniosło $3,878 \pm 2,86$ ml. Objętość po leczeniu znacznie zmniejszyła się w porównaniu z objętością po obróbce ($P = 0,0007$). Dziewięćdziesiąt pięć procent ochotników zgłosiło zadowolenie z poprawy zwiotczenia skóry, a dziewięćdziesiąt procent ochotników zgłosiło zadowolenie z poprawy zmarszczek, takich jak fałdy nosowo - wargowe. Średni stopień zadowolenia pacjentów pod względem zwiotczenia skóry i zmarszczek na podstawie 5 - punktowej skali od 0 do 4 wynosił odpowiednio $3,5 \pm 0,9$ i $3,2 \pm 1,1$. Istniała bardzo dobra korelacja między zmniejszeniem objętości policzków a zadowoleniem pacjenta [135].

Obiektywną, instrumentalną analizę swoich wyników badań z wykorzystaniem aparatury pomiarowej - kutometra zastosowali Gold i wsp. oceniając grupę 45 pacjentów. Badanie to zostało zaprojektowane w celu oceny skuteczności i bezpieczeństwa redukcji zmarszczek twarzy przez NEWA® (EndyMed Medical Ltd.), kontrolowane fazowo, wielofunkcyjne urządzenie energetyczne RF - pierwsze urządzenie podręczne zatwierdzone przez FDA do domowego stosowania w zakresie redukcji zmarszczek. Analiza badań ujawniła, iż pod koniec trzech miesięcy terapii większość uczestników miała klinicznie znaczącą poprawę tekstury, kolorytu i elastyczności skóry. W szczególności, statystycznie znaczący efekt wizualnego liftingu twarzy i efekt podnoszenia linii żuchwy wykazano odpowiednio u 62,2% ($<0,05$) i 77,8% ($<0,01$). Ponadto, uzyskano statystycznie znaczącą poprawę jędrności skóry za pomocą kutometru, która rozpoczęła się po 4 tygodniach od przeprowadzenia zabiegu (12,94% poprawa u 60% pacjentów), zwiększając rezultat w tygodniach 8 i 12 (22,42% poprawa u 84,4% pacjentów). Poprawiła się także elastyczność, zaczynając od średniej poprawy 46,79% w 4. tygodniu i rosnąc do 48,86% w 12. tygodniu [212]. Wykorzystanie kutometru do obiektywnej oceny rezultatów swoich badań klinicznych zastosowali także Seo wraz z zespołem. Badaniem objęli trzydzieści kobiet w wieku 43 – 68 lat. Przeprowadzono 4 sesje leczenia z zastosowaniem nieablacyjnej częstotliwości radiowej - multipolarnej, 1 MHz (Mimari, MIP 880) w odstępach 2 - tygodniowych. Właściwości biomechaniczne skóry mierzono za pomocą kutometru w okresie przed leczeniem i 3 miesiące po zakończeniu terapii. U 46% kobiet o skórze mieszanej zaobserwowano umiarkowaną zmianę, podobnie u 55% kobiet z normalną skórą i 59% u kobiet z suchą skórą [167].

Z kolei jeszcze szersze spektrum instrumentalnych metod pomiaru skóry, zapewniając rzetelną i obiektywną analizę uzyskanych rezultatów, zastosowali w swoich badaniach Suh i wsp. Wykorzystano Multisource RF system 3DEEP z sześcioma niezależnymi generatorami RF. Pacjenci przechodzili trzy sesje leczenia w odstępach miesięcznych. Wskaźniki poziomu nawilżenia skóry, TEWL i elastyczności skóry określono przed i po każdym zabiegu poprzez analizę Multiprobe Adapter. Wyniki dla korneometru przed terapią wynosiły 61,52%, a uzyskane po 3 zabiegach obejmowały wartość 71,13%. Z kolei analiza elastyczności poprzez pomiar kutometryczny wskazywała na wartości przed zabiegiem rzędu 59,38%, a po 3 sesjach zabiegowych 71,13%. Jednakże nie stwierdzono istotnych różnic w indeksie wartości TEWL przed i po leczeniu ($p > 0,05$), które wynosiły odpowiednio 3,47 i 3,20 [161]. Do podobnych wniosków doszedł Nicoletti i wsp., badając wpływ monopolarnej pojemnościowej częstotliwości radiowej, stymulacji elektrycznej i podciśnienia na redukcję blizn. Udowodniono wówczas brak znaczącego wpływu na warstwę rogową naskórka i TEWL sugerując, że częstotliwości radiowe w zakresie mocy terapeutycznej selektywnie działają na skórę właściwą i oszczędzają naskórek [172]. Tego typu postulaty nie pokrywają się z uzyskanymi wynikami tego indeksu w niniejszej pracy, które obejmują istotne statystycznie spadki wartości tego współczynnika. Świadczyć to może o korzystnym wpływie zastosowanej synergii Rf monopolarnego z elektroporacją na jakość warstwy rogowej naskórka, zwiększeniu jej szczelności i zatrzymaniu wody w głębszych partiach skóry - im niższa wartość TEWL, tym lepszy efekt zatrzymania wody w skórze i jej nawilżenie. Podobne założenia głosi Lee wraz z zespołem twierdząc, iż według jednego z badań potwierdzona została zmiana jakości naskórka, co uznano jako ważny wynik leczenia RF [156]. Również zmiany w obszarze naskórka potwierdzają klinicznie w swoich badaniach El - Domyati i wsp., przeprowadzając monopolarnym Rf 6 sesji w dwutygodniowych odstępach. Chociaż badana energia RF celuje w warstwę skóry właściwej, w tym badaniu zaobserwowano uderzające zmiany w cechach histologicznych naskórka. Wykazano bowiem zauważalny wzrost grubości naskórka pod koniec leczenia i 3 miesiące po serii zabiegowej, szczególnie w warstwie komórek ziarnistych. Te odkrycia sugerują, że proliferacja komórek w naskórku jest zwiększona i może przyczynić się do poprawy wyglądu skóry, co także odzwierciedlają wyniki TEWL niniejszej rozprawy [169]. Natomiast w odniesieniu do zaprezentowanych badań klinicznych - również w badaniach poniższej rozprawy odnotowano statystycznie istotny wzrost stopnia nawilżenia oraz elastyczności skóry. Wyniki dla korneometru przed terapią i uzyskane po jej zakończeniu obejmują mediany dla strony lewej od 60,7% do 90,7%, w przypadku strony prawej od 61,3% do 91,3%. Podobnie kształtują się

pomiary kutometrem przed i po serii zabiegowej, odpowiednio dla strony lewej mediany od 57,7% do 90,3%, dla strony prawej od 56,3% do 91,0%. Wyniki te są zbliżone, bądź wyższe od uzyskanych w badaniach klinicznych innych autorów o podobnym profilu terapeutycznym.

Odnosząc się do wcześniejszych opracowań względem najskuteczniejszej metodyki zabiegu, w niniejszych badaniach przeprowadzono łącznie 3 zabiegi Rf monopolarnego z elektroporacją w serii, wykorzystując technikę przejść wielokrotnych oraz nieprzekraczanie temperatury naskórka w przedziale 40 - 43 °C, aby w skórze właściwej wygenerować temperaturę rzędu 60 °C, uznawaną klinicznie za wysoce skuteczną. Zastosowano także niską częstotliwość prądu monopolarnego, aby umożliwić odpowiednią głębokość opracowania warstwy siateczkowatej skóry właściwej, ponieważ literatura podaje, iż głębokość penetracji RF jest odwrotną funkcją jej częstotliwości. To oznacza, że przy niższych częstotliwościach (0,4 - 0,8 MHz) występuje głębsza emisja energii, a przy wyższych częstotliwościach (2,45 MHz), penetracja zachodzi bardziej powierzchownie. Zelickson i wsp. wspominają jednak, że możliwa jest zmiana głębokości penetracji leczenia poprzez zmianę geometrii elektrody, ilości dostarczonej mocy i czasu trwania leczenia [140].

Zalecane algorytmy terapii za pomocą urządzenia RF zmieniły się znacząco od czasu jego wprowadzenia na rynek medyczny. Początkowo pacjenci byli leczeni jednym przejściem technologii radiofrekwencji w warunkach wysokiej energii, co często prowadziło do mieszanych wyników klinicznych i znacznego dyskomfortu leczenia, a także wzrostu ryzyka powikłań. Dlatego nowsze standardy obejmują wytyczne dotyczące leczenia, które wykorzystują technikę wielokrotnego przejścia z obniżonymi ustawieniami energii, co skutkuje lepszymi wynikami klinicznymi i histologicznymi, a także znaczącym zmniejszeniem dyskomfortu pacjenta i przewidywalnością terapii [167]. Badania klinicznie istotnie wykazały, że wielokrotne leczenie z wieloma przejściami zapewnia lepsze osiągnięcia. Jacobson i wsp. leczyli 24 dorosłych pacjentów systemem ThermoCool (Solta Medical Inc). Badani otrzymywali leczenie co 1 - 3 miesiące. Badacze nie sprecyzowali, ile całkowitych terapii zastosowano w ich badaniu, ale stwierdzili, że w przypadku pacjentów, którzy otrzymali więcej niż jedno leczenie, wydawało się, że kolejne sesje leczenia dodatkowo zwiększyły napięcie skóry. W ostatnich badaniach Sukal i Geronemus leczyli pacjentów dwoma przejściami na czole, trzema na policzkach i jednym na szyi; każdy pacjent otrzymał 1 do 3 zabiegów w odstępie 4 tygodni. Autorzy stwierdzili, że u pacjentów zaobserwowano widoczną poprawę po 1 - miesięcznym okresie obserwacji, a większą poprawę po 3 - miesięcznym okresie obserwacji. Wyniki badań przeprowadzonych przez Jaffary i wsp. także potwierdziły, że pacjenci byli znacznie bardziej zadowoleni z wyników RF 6 miesięcy po zakończeniu

leczenia niż 1 miesiąc po przeprowadzeniu terapii [105]. Przegląd literatury wskazuje na podobne ustalenia, iż rezultaty zabiegowe z wykorzystaniem technologii Rf nasilają się w czasie.

Bardzo ważne względem protokołu wykonywania zabiegów radiofrekwencji jest wygenerowanie i utrzymanie odpowiedniej temperatury. W tym celu do monitorowania tego procesu zastosowano termometr z podczerwienią. Cel termiczny procedur z zastosowaniem technologii Rf jest niezmiernie istotny, gdyż aby wyzwolić reakcje biologiczne w tkance, temperatura skóry musi osiągnąć powyżej 50 °C [153]. Istotnym również jest, aby energię fal radiowych podawać nieprzerwanie w danym obszarze zabiegowym, z uwagi na fakt szybkiego wychłodzenia - przerwanie zabiegu powoduje gwałtowny spadek temperatury skóry w zakresie 2 - 3 °C w ciągu 5 sekund [181]. Dlatego w niniejszych badaniach nie przerywano dostarczenie energii Rf do tkanki, mając również na uwadze, iż każdy centymetr kwadratowy poddany odpowiedniej obróbce termicznej ma 5 - 20% objętości denaturowanego kolagenu [163].

Osiągnięty zatem w przeprowadzonym projekcie istotny statystycznie, wyraźny wzrost elastyczności i nawilżenia skóry opiera się na głębokim ogrzewaniu tkanek, co ma na celu indukowanie syntezy nowego kolagenu i włókien elastynowych oraz mukopolisacharydów, w rezultacie prowadząc do zagęszczenia i nawilżenia skóry. Ze względu na lepszą penetrację tkanek, obróbka monopolarnym RF jest zdolna do objętościowego ogrzewania środkowych i głębokich warstw skóry, a także do selektywnego ogrzewania włóknistych pasm kolagenu tkanki podskórnej i warstwy powięzi. Bassichis i in. ujawnili dodatkowy potencjalny mechanizm działania dla monopolarnego RF - modyfikacja termiczna sieci włóknistych przegród na bazie kolagenu, oddzielających adipocyty. Ponieważ energia RF zwykle podąża ścieżką najmniejszego oporu, włókniste przegrody są preferencyjnie podgrzewane, wywołując skurcz włókien kolagenowych, co rozpatruje się jako klucz do późniejszej przebudowy tkanki podskórnej i zaciśnięcia skóry wraz z powięzią. Według Ruiz - Esparza i in., efekty termiczne RF mogą zmienić kształt, długość i średnicę włókien kolagenowych w celu reorganizacji kolagenu [108, 182].

Odpowiedź in vivo na termiczne gojenie się ran składa się z 3 następujących po sobie etapów: zapalnego, rozrodczego i przebudowy. Może to wyjaśniać, dlaczego kliniczny, wyraźny wzrost wyników uzyskiwano w niniejszych badaniach wraz z upływem czasu w sposób ciągły. Ponadto, na poziomie molekularnym RF indukuje aktywność ekspresji wielu mediatorów, w tym HSP, TGF - beta czy VEGF. Histologicznie z kolei RF może natychmiast powodować częściową lub całkowitą denaturację helisy włókien kolagenowych, skurcz kolagenu i obrzęk skóry wywołany termiczną konformacją kolagenu. Stąd efekty

długoterminowe obejmują remodelowanie i reorientację kolagenu oraz elastyny ze względu na stymulację fibroblastów [166].

W poniższym badaniu nie zaobserwowano istotnej statystycznie korelacji RF monopolarnego z elektroporacją w stosunku do wieku, menopauzy, fototypu czy przesuszenia skóry. Odmienne obserwacje zaproponowali jednak Friedman i Gilead, którzy zaprezentowali mniej korzystne wyniki leczenia RF u starszej grupy pacjentów, w przedziale wiekowym 46 – 66 lat. Z kolei badanie Alster i Tanzi nie wykazało poprawy klinicznej w grupie pacjentów ze średnią wieku wynoszącą 62,19 lat. Dodatkowo, Royo i wsp. zauważyli, że młodszy wiek był pozytywnie skorelowany z dobrymi wynikami. Jednak wyniki niniejszego badania nie potwierdziły tych analiz, wykazując, iż synergia radiofrekwencji monopolarnej wraz z elektroporacją stanowi wyraźny stymulator procesów odmładzania skóry, a dobre wyniki można osiągnąć zarówno u kobiet przed, jak i po menopauzie. Podobnie, nie było różnicy w odniesieniu do rezultatów klinicznych po zastosowaniu monopolarnego RF między młodszy (poniżej 30 lat) a starszymi (w wieku 45 - 60 lat) pacjentami w badaniu Tay i Kwok. O ile wiadomo, jest to także pierwsza praca pokazująca skuteczność zabiegu RF niezależnie od rodzaju skóry. Chociaż większość pacjentów miała suchą lub mieszaną skórę, leczenie było skuteczne i dobrze tolerowane przez wszystkich probantów. Sucha skóra pretenduje do większej wrażliwości, tym samym grupa pacjentów ją reprezentująca była bardziej narażona na prawdopodobne powikłania, jednakże takowych nie zaobserwowano - takie spostrzeżenia potwierdzają również badania charakteryzujące niniejszą rozprawę [178].

Warto wyjaśnić również rozbieżność między efektami leczenia RF w różnych publikowanych artykułach, która może wynikać z zastosowanych typów urządzeń, parametrów, odstępów czasowych między sesjami, ilości zabiegów w serii, wieku pacjentów lub metod oceny i interpretacji wyników. Dlatego istnieje potrzeba potwierdzania wyników obiektywnymi metodami. Nie wszystkie badania miały także określoną specyfikację techniczną zastosowanej aparatury. W niniejszym badaniu wykorzystano w pełni obiektywne, instrumentalne metody pomiaru skóry, które w rzetelny sposób relacjonują potencjał biofizyczny tkanek i procesy w nich zachodzące.

Należy także rozumieć, iż każda metoda bezinwazyjnego odmładzania skóry zachodzi przy udziale procesów regeneracyjnych, co wskazuje na czasochłonność syntezy kolagenu, elastyny czy kwasu hialuronowego. Dlatego skuteczność zabiegów determinowana jest indywidualnymi tendencjami skóry do procesów naprawczych - każdy wykazuje indywidualny potencjał regeneracyjny skóry. Ponadto, zasadne jest mieć na uwadze, iż ilość ciepła będzie zróżnicowana w zależności od zastosowanej częstotliwości i mocy prądu,

poziomów oporu w docelowej tkance i charakterystyki elektrod. Ludzkie tkanki, w tym skóra, są bogate w elektrolity i szereg związków, które pozwalają na przewodzenie prądu o różnych stopniach impedancji, co determinuje wygenerowanie ciepła. Istotna jest również zawartość wody w skórze, której ilość warunkuje pora dnia, wilgotność otoczenia, nawilżenie i typ skóry oraz odpowiednia pielęgnacja.

Przeprowadzone badanie niewątpliwie ukazuje, że równoczesne zastosowanie monopolarnej fali radiowej i ukierunkowanej elektroporacji pozytywnie wpływa na procesy odnowienia skóry w postaci wzrostu elastyczności i nawilżenia skóry oraz obniżenia TEWL. Zastosowana w badaniu radiofrekwencja monopolarna stanowi nieinwazyjną modalność terapeutyczną, która wyzwała selektywny i kontrolowany wzrost temperatury tkanek z udziałem prądu zmiennego o częstotliwości 500 kHz. Niebywałą zaletą tej procedury jest indukcja odpowiedzi termicznej zależna od właściwości elektrycznej tkanki, jednakże bez konkretnej interakcji chromoforowej. Ta wartość czyni tę metodę bezpieczniejszą od zabiegów optycznych. Wsparcie elektroporacji zapewnia dodatkowe wzmocnienie otrzymanych rezultatów, a jej ostatecznym celem jest umożliwić penetrację substancji aktywnych w głąb skóry, przyspieszając i wzmacniając przy tym neokolegenezę i elastogenezę. Dodatkowo technologia wspiera i nasila nawilżenie skóry.

Wyniki uzyskanych w tym badaniu parametrów skóry odzwierciedlają podobne lub stanowią wyższe wartości od podanych w literaturze w odniesieniu do zastosowania promieniowania elektromagnetycznego o częstotliwości radiowej. Świadczyć to może o potwierdzeniu większej skuteczności radiofrekwencji w oparciu o technologię łączoną z elektroporacją.

Działania niepożądane zaś wynikające ze stosowania metody łączonej w postaci radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją były nieznaczne i przemijające, dotyczyły rumienia oraz obrzęku i nie występowały częściej, aniżeli przy zastosowaniu samej radiofrekwencji.

11. WNIOSKI

Przeprowadzone badania i uzyskane w nich wyniki pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Stwierdzono, że synergia radiofrekwencji i eletroporacji może być wykorzystana jako skuteczna metoda odmładzania skóry.
2. Wykazano poprawę poziomu nawilżenia skóry oraz wzrost jej elastyczności, jak również zmniejszenie przeznaskórkowej utraty wody.
3. Udowodniono stabilność wyników pomiarów skóry oraz wykazano istotną na poziomie tendencji statystycznej poprawę mierzonych parametrów skóry: średni wzrost wartości po trzecim zabiegu do wartości początkowych w przypadku korneometru wyniósł 28%, kutometru 32 %, a wartości TEWL zmalały średnio o $2,65 \text{ gm}^{-2}\text{h}^{-1}$.
4. Wyniki oceny subiektywnej są zbieżne z wynikami pomiarów aparaturowych. Ponadto, niektóre respondentki wskazały dodatkowe korzyści wynikające z przeprowadzonych zabiegów, takie jak: rozświetlenie skóry, zwężenie mieszków włosowych czy wyrównanie kolorytu.

12. STRESZCZENIE

Interdyscyplinarność i ścisła zależność współczesnej biofizyki i kosmetologii stanowią doskonałą korelację w zakresie oceny i monitorowania wpływu poszczególnych terapii przeciwstarzeniowych na skórę, w tym również z wykorzystaniem aparatur. Skóra trafnie odzwierciedla bardzo dobry model badawczy w odniesieniu do procesów starzenia, dlatego zrozumienie jej budowy i poszczególnych mechanizmów starzenia skóry odgrywa fundamentalną rolę w wykorzystaniu jej biofizycznego potencjału w procesach odmładzania.

Celem niniejszej pracy była ocena działania synergii radiofrekwencji monopolarnej i elektroporacji oraz ich zwiększonej skuteczności w technice łączonej w zakresie trwałości korelacji pomiędzy poprawą elastyczności skóry a jej poziomem nawilżenia.

W rozprawie doktorskiej zaprezentowano zagadnienia literaturowe zarówno w odniesieniu do anatomii i fizjologii skóry, jak i zmian histologicznych w przebiegu starzenia skóry. Zostały także scharakteryzowane procesy wewnątrzpochodnego i zewnątrzpochodnego starzenia skóry czy miostarzenia skóry, zmian starzeniowych w objętości mięśni twarzy oraz budowie i masie kostnej twarzoczaszki. Następnie sklasyfikowano przeciwstarzeniowe zabiegi aparaturowe w oparciu o specyfikę skóry twarzy. Kolejne rozdziały opierały się na charakterystyce, klasyfikacji i klinicznym zastosowaniu radiofrekwencji oraz elektroporacji. Część literaturową zakończył rozdział opisujący instrumentalne metody pomiaru właściwości biofizycznych skóry.

W części doświadczalnej przebadana została grupa wiekowa w przedziale 39 - 59 lat licząca 51 kobiet, na której przeprowadzono trzy zabiegi synergii radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją w odstępie miesiąca oraz trzech miesięcy. Kryteriami włączenia do badania były kobiety z klinicznie cerą suchą i mieszaną oraz widocznymi zmarszczkami, o fototypie II, III i IV według skali *Fitzpatrick'a*, które w ciągu roku nie miały przeprowadzanych żadnych zabiegów kosmetycznych oraz z zakresu medycyny estetycznej, a w przypadku pielęgnacji zalecono jedynie krem nawilżający, który należało stosować co najmniej trzy miesiące przed pierwszym pomiarem oraz przez cały okres trwania projektu. Zarówno przed, jak i od razu po wykonaniu każdego z trzech zabiegów zostało przeprowadzone badanie korneometryczne, tewametryczne i kutometryczne. Po wykonaniu pierwszego z trzech zabiegów kolejny zabieg odbył się po upływie miesiąca, natomiast ostatni zabieg po trzech miesiącach. Po odstępie trzech miesięcy od ostatniego zabiegu wykonano końcowe badanie pomiarowe.

W niniejszej pracy subiektywna ocena skuteczności terapii radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją była zapisywana przez ankietowane w zakresie takich czynników, jak uelastycznienie, nawilżenie, świątliwość oraz jędrność. Jędrność skóry została najwyższym ocenionym parametrem. Natomiast końcowy wskaźnik oceny subiektywnej po serii zabiegów odzwierciedla pozytywną ocenę estetycznego wyglądu skóry przez probantki. Żadna nie wykazała niezadowolenia z rezultatów przeprowadzanych zabiegów. Okres po jakim najczęściej zauważono efekty terapii przez respondentki był wskazywany po 2 tygodniu lub miesiącu od każdorazowego zabiegu.

W każdym z analizowanych przypadków nastąpił również istotny na poziomie tendencji statystycznej wzrost obiektywnej oceny wyników pomiędzy poszczególnymi spotkaniami, zarówno w zakresie pomiarów korneometrycznych, jak i kutometrycznych oraz istotny na poziomie tendencji statystycznej spadek wyników tewametrycznych.

Część badawcza rozprawy udowodniła stabilność procesów przebudowy skóry oraz trwałość rezultatów - między kolejnymi zabiegami wykazano istotną na poziomie tendencji statystycznej poprawę mierzonych parametrów skóry. Największa kliniczna zmiana stanu skóry nastąpiła po serii zabiegów i dłuższym wymiarze czasu od ich przeprowadzenia. Po trzech miesiącach od wykonania ostatniego z trzech zaplanowanych w projekcie zabiegów odnotowano dalszą poprawę parametrów skóry. Ponadto, uzyskane wyniki badań eksperymentalnych odzwierciedlają wyniki ankiety prowadzonej wśród probantek.

Podsumowując, zastosowane w ramach pracy doktorskiej skojarzenie dwóch metod, jakimi były radiofrekwencja monopolarna i elektroporacja w zakresie terapii anti - aging wskazało na sens optymalizacji każdej z tych technologii, uzyskując wzrost elastyczności i nawilżenia skóry oraz ograniczając TEWL.

Konieczne są jednak dalsze badania w kierunku synergii radiofrekwencji i elektroporacji, aby określić bardziej długofalowy wpływ tej metody na skórę oraz objąć badaniami większą liczbę uczestników.

13. SUMMARY

The interdisciplinarity and close interdependence of modern biophysics and cosmetology provide an excellent correlation in terms of assessing and monitoring the effects of individual anti-ageing therapies on the skin, including the use of apparatus. The skin aptly reflects a very good research model concerning ageing processes, therefore understanding its structure and the individual mechanisms of skin ageing plays a fundamental role in exploiting its biophysical potential in rejuvenation processes.

The objective of the study was to evaluate the synergistic effects of monopolar radiofrequency and electroporation along with their enhanced effectiveness in a combined technique on the durability of the correlation between the improvement of skin elasticity and its hydration levels.

The doctoral dissertation presents literature issues both with regard to anatomy and physiology of the skin, as well as histological changes in the course of skin ageing. Moreover, the thesis characterises the processes of intrinsic and extrinsic skin ageing or skin mio - ageing, ageing changes in facial muscle volume as well as facial bone structure and mass. Anti - ageing apparatus treatments were then classified based on the specificity of the facial skin. The following chapters pertained to the characteristics, classification and clinical application of radiofrequency and electroporation. The literature-based section concludes with a chapter describing instrumental methods for measuring biophysical properties of the skin.

The experimental part involved studying a group of 51 women, aged between 39 - 59, who have received three treatments using monopolar radiofrequency and electroporation synergy at an interval of one month and three months. The study was carried out exclusively on women with clinically dry and combination skin and visible wrinkles, phototypes II, III and IV according to the Fitzpatrick scale, who had not had any cosmetological or aesthetic treatments within a year, and in terms of skin care, only a moisturiser was recommended, which had to be applied at least three months before the first measurement and throughout the duration of the project. Both before and immediately after each of the three treatments, a corneometric, tewametric and cuticular examination was carried out. After the first of the three treatments, the subsequent treatment was performed after one month, whereas the final one took place after three months. The final measurement study was conducted three months after the last treatment.

In this study, the subjective evaluation of the effectiveness of monopolar radiofrequency therapy with electroporation was recorded by conducting a survey regarding factors such as elasticity, hydration, luminosity and firmness. Skin firmness was the highest scored parameter.

The final subjective evaluation index after the series of treatments represents participants' positive assessment of the aesthetic appearance of the skin. None of the subjects indicated dissatisfaction with the results of the treatments. Respondents noticed the effects of the procedure most frequently after a period of two weeks or a month after each treatment.

During each of the analysed cases, there was also a significant at the level of statistical trend increase in objective performance between the meetings, in terms of both corneometric and cutometric measurements, along with a significant at the level of statistical trend decrease in tewametric score

The research part of the dissertation evidenced the stability of the skin remodelling processes and the durability of the results - between consecutive treatments, a significant improvement in the measured skin parameters was demonstrated at the level of statistical tendency. The most significant clinical change in skin condition occurred after a series of treatments and a longer time after their performance. Further improvement in skin condition was noted three months after the last of the three planned treatments. Furthermore, the results obtained from the experimental study reflect the results of the questionnaire conducted among participants.

In conclusion, the application of the association of two methods, namely monopolar radiofrequency and electroporation in the field of anti - ageing therapy, within the framework of the dissertation, proved the significance of optimising each of these technologies, obtaining an improvement in skin elasticity and hydration as well as a reduction in TEWL.

Nevertheless, further research on the synergy of radiofrequency and electroporation is needed to determine the more long - term effects of this method on the skin and to study a larger number of participants.

14. PIŚMIENNICTWO

- [1]. Shin J.W., Kwon S.H., Choi Ji.Y., Na J.I., Huh Ch.H., Choi H.R., Park K.Ch: Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches, *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 2126
- [2]. Safari M., Calina D., , Docea A.O., Tsioumas S., Katsarou M.S., Papadogiorgaki S., Fragkiadaki P., Branisteanu D.E., Kouskkoukis K., Tsiaoussis J., Spandidos D.A.: A novel approach regarding the anti-aging of facial skin through collagen reorganization, *Experimental and therapeutic medicine* 2020, 19: 717-721
- [3]. Qin Z., Balimunkwe R.M., Quan T.: Age-related reduction of dermal fibroblast size up-regulates multiple matrix metalloproteinases as observed in aged human skin *in vivo*, *Br J Dermatol.* 2017 November ; 177(5): 1337–1348
- [4]. Kaplan H., Lilach Kaplan L.: Combination of microneedle radiofrequency (RF), fractional RF skin resurfacing and multi-source non-ablative skin tightening for minimal-downtime, full-face skin rejuvenation, *Journal of CosmetiC and laser therapy* 2016, Vol. 18, no. 8, 438–441
- [5]. Martini C.M. „Kosmetologia i farmakologia skóry”, Wyd. PZWL, Warszawa 2007.
- [6]. Fisher G.J., Taihao Q., Trupta P., Yuan S., Kyun Ch. M., Tianyuan H., James V., Sewon K., Voorhees J.J. Collagen Fragmentation Promotes Oxidative Stress and Elevates Matrix Metalloproteinase-1 in Fibroblasts in Aged Human Skin, *Am J Pathol* 2009, 174:101–114
- [7]. Quan T., Gary J Fisher G.J.: Role of Age-Associated Alterations of the Dermal Extracellular Matrix Microenvironment in Human Skin Aging,
- [8]. Ganceviciene R., Aikaterini i.L., Makrantonaki E., Zouboulis Ch.C.: Skin anti-aging strategies, *Dermato-endocrinology* 2012; 4:3, 308–319
- [9]. Fisher G.J., Varani J., Voorhees J.J.: Looking older: Fibroblast Collapse and Therapeutic Implications, *Arch Dermatol*, 2008 May; 144(5): 666–672
- [10]. Taub A.F., Tucker R.D., Palange A.: Facial Tightening With an Advanced 4-MHz Monopolar Radiofrequency Device, 2012; 11 :11, 1288
- [11]. Barcaui E.O., Carvalho A.C.P., Pineiro-Maceira J., Barcaui B., Moraes H.: Study of the skin anatomy with high-frequency (22 MHz) ultrasonography and histological correlation, *Radiol Bras.* 2015 Set/Out; 48(5):324–329
- [12]. Prendergast P.M., Shiffman M.A. „Aesthetic medicine”, Wyd. Springer 2011; 69-72, 131-132
- [13]. Wojnowska D., Chodorowska G., Juszkievicz-Borowiec M.: Sucha skóra - patogeneza, klinika i leczenie, *Postępy dermatologii i alergologii* 2003, XX, 2: 98-105
- [14]. Villaret A., Ipinazar C., Satar T., Gravier E., Mias C., Questel E., Schmitt A.M., Samouillan V., Nadal F., Josse G.: Raman characterization of human skin aging, *Skin Research & Technology*, May2019, Vol. 25 Issue 3, p270-276
- [15]. Limbert G. „Skin biophysics. From experimental characterisation to advanced modelling”, Wyd. Springer 2006; 2-9, 21-26
- [16]. Yaar M, Gilchrest BA.: Skin aging: postulated mechanisms and consequent changes in structure and function. *Clin. Geriatr. Med.* 2001; vol. 17: 617-630
- [17]. Guinot C, Malvy D, Tenenhaus M, et al. Relative contribution of intrinsic vs extrinsic to skin aging as determined by a validated skin age score. *Arch Dermatol.* 2002; vol. 138(11): 1454–1460

- [18] Sherratt M.J.: Tissue elasticity and the ageing elastic fibre, *Age* (Dordr) 2009, 31, 305–325
- [19]. Naylor E.C., Watson R.E., Sherratt M.J.: Molecular aspects of skin ageing, *Maturitas* 2011, 69, 249–256
- [20]. Purohit T., He T., Qin Z., Li T., Fisher G.J., Yan Y., Voorhees J.J., Quan T.: Smad3-dependent regulation of type collagen in human dermal fibroblasts: Impact on human skin connective tissue aging, *J. Dermatol. Sci.* 2016, 83, 80–83
- [21]. Graham H.K., Eckersley A., Ozols M., Mellody K.T., Sherratt M.J.: *Human Skin: Composition, Structure and Visualisation Methods*, Wyd. Springer International Publishing, 2019
- [22]. Pikuła M., Langa P., Kosikowska P., Trzonkowski P.: Komórki macierzyste i czynniki wzrostu w gojeniu ran, *Postępy High Med Dosw*, 2015;69:874-885
- [23]. Cendrowski K.J., Czarkowska-Pączek B.S. „Powikłania pooperacyjne w ginekologii” Wyd. PZWL, Warszawa 2009
- [24]. Błazewicz I., Jaśkiewicz M., Piechowicz L., Kamysz W., Nowicki R., Barańska-Rybak W.: Rola peptydów przeciwdrobnoustrojowych w wybranych dermatozach, *Przegl. Dermatol.* 2016, 103, 227-232
- [25]. Wu J., Khalid Abbas H.M., Li J., Yuan Y., Liu Y., Wang G., Dong W.: Cell Membrane-Interrupting Antimicrobial Peptides from *Isatis indigotica* Fortune Isolated by a *Bacillus subtilis* Expression System, Jan2020, Vol. 10 Issue 1, p1-17.29p
- [26]. Prahl A., Małuch I.: Charakterystyka peptydów przeciwdrobnoustrojowych oraz wpływ modyfikacji chemicznych na modulowanie ich aktywności biologicznej, *Postępy Biochemii* 65 (4) 2019
- [27]. Hu A.C., Hong E.M., Toubat O., Sivoraphon R., Barnes Ch., Moy W.J., Krasieva T.B., Wong B.J.F: Multiphoton Microscopy of Collagen Structure in Ex Vivo Human Skin Following Electrochemical Therapy, *Lasers in Surgery and Medicine* 52:196–206
- [28]. Żelazczyk D., Waszkielewicz A., Marona H.: Kolagen - struktura oraz zastosowanie w kosmologii i medycynie estetycznej, *Estetol Med Kosmetol* 2012; 2(1): 14-20
- [29]. Verhaegen P.D., Schouten H.J., Tigchelaar-Gutter W., Marle v.J., Cornelis J.v N., Middelkoop E., Zuijlen v.P.P.: Adaptation of the dermal collagen structure of human skin and scar tissue in response to stretch: An experimental study, *Wound Rep Reg* (2012)
- [30]. Chełstowska S., Wajs J., Rzepecki P., Płusa T.: Rola fibrocytów w procesach włóknienia płuc, *Pol. Merk. Lek.*, 2014, XXXVI, 211, 39 - 42
- [31]. Katz B.E., Sadick N.S. „Dermatologia kosmetyczna. Modelowanie sylwetki”, Wyd. Elsevier Urban and Partner, Wrocław 2011, 9-21
- [32]. Jo J., Shreif Z., Vipul Periwal V.: Quantitative dynamics of adipose cells, *Adipocyte* 2012; 1:2, 80–88
- [33]. Mohiuddin A.: Skin aging and modern age anti - aging strategies. *Global Journal of Medical Research* 2019, vol. 19(2): 14-60
- [34]. Campiche R., Trevisan S., Séroul P., Rawlings A.V., Adnet C., Imfeld D., Voegeli R.: Appearance of aging signs in differently pigmented facial skin by a novel imaging system. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2019, vol. 18(2): 614-627
- [35]. Halbina A., Trznadel-Grodzka E., Rotsztejn H.: Fractional laser therapy – the next step in alleviating the symptoms of skin aging (own observations), *Prz Menopauzalny* 2014; 18(2): 132-135

- [36]. Ganceviciene R., Aikaterini I., Liakou I.A., Theodoridis A., Makrantonaki E., Christos C., Zouboulis C.C.: Skin anti-aging strategies, *Dermato-endocrinology* 4:3, 308–319; July–December 2012
- [37]. Atiyeh B.S., Dibo S.A.: Nonsurgical Nonablative Treatment of Aging Skin: Radiofrequency Technologies Between Aggressive Marketing and Evidence-Based Efficacy *Aesthetic Plastic Surgery*. May 2009 33(3):283-294
- [38]. Shin J.-W., Kwon S.-H., Choi J.-Y., Na J.-I., Huh Ch.-H., Choi H.-R., Park K.-Ch.: Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches, *J. Mol. Sci.* 2019, 20, 2126
- [39]. El-Domyati M., El-Ammawi T.S., Medhat W., MOawad O., Machoney M.G., Uitto J.: Electro-optical Synergy Technique. A New and Effective Nonablative Approach to Skin Aging, *J Clin Aesthet Dermatol.* 2010;3(12):22–30
- [40]. Gerhardt L.-C., Lenz A., Spencer N. D., Mu nzer T., Derler S.: Skin–textile friction and skin elasticity in young and aged persons, *Skin Research and Technology* 2009; 15: 288–298
- [41]. Fisher G.J., Varani J., Voorhees J.J.: Looking older: Fibroblast Collapse and Therapeutic Implications, *Arch Dermatol.* 2008 May ; 144(5): 666–672
- [42]. Quan T., Qin Z., Xia W., Shao Y., Voorhees J.J., Fisher G.J.: Matrix-degrading Metalloproteinases in Photoaging, *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2009 August ; 14(1): 20-24
- [43]. Louis F., Fujii N., Katsuyama M., Okumoto S., Matsusak M.: Effects of radiofrequency and ultrasound on the turnover rate of skin aging components (skin extracellular matrix and epidermis) via HSP47-induced stimulation, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 525, 2020, 73e79
- [44]. By Fisher G.J., Quan T., Purohit T., Shao Y., Cho M.K., He T., Varani J., Kang S., Voorhees J.J.: Collagen Fragmentation Promotes Oxidative Stress and Elevates Matrix Metalloproteinase-1 in Fibroblasts in Aged Human Skin, In *The American Journal of Pathology*, 2009 174(1):101-114
- [45]. Sadick N.S., Harth Y.: Journal of cosmetic and laser therapy: A 12-week clinical and instrumental study evaluating the efficacy of a multisource radiofrequency home-use device for wrinkle reduction and improvement in skin tone, skin elasticity, and dermal collagen content, *European Society for Laser Dermatology*, 1476-4180, 2016 Dec, Tom 18
- [46]. Qimn Z., Balimunkwe R.M., Quan T.: Age-related reduction of dermal fibroblast size up-regulates multiple matrix metalloproteinases as observed in aged human skin *in vivo*, *Br J Dermatol.* 2017 November ; 177(5): 1337–1348
- [47]. Kasprzak D., Wnorowski A.: A variety of processes that affect the perception of skin aging, *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.* 2019, Vol. 32, No. 3, p:146-153
- [48]. Resich-Kozieł L., Kornelia Niemyska K.: Rodzaje oraz przyczyny starzenia się skóry, *Kosmetologia Estetyczna*, 1/2020/vol. 9, 18-22
- [49]. Zegarska B., Woźniak M.: Reasons of endogenous aging of the skin, *Gerontologia Polska* 2006, tom 14, nr 4, 153–159
- [50]. Ganceviciene R., Liakou A.I., Theodoridis A., Makrantonaki E., Zouboulis C.C.: Skin anti-aging strategies, *Dermato-endocrinology*, 2012 Jul 1;4(3):308-19
- [51]. Gkogkolou P., Böhm M.: Advanced Glycation End Products (AGEs): Emerging Mediators of Skin Aging, *Textbook of Aging Skin*, 2017:1675-86
- [52]. Lee K.H., Ng Y.P., Cheah P.S., Lim C.K., Toh M.S.: Molecular characterization of glycation-associated skin ageing: an alternative skin model to study *in vitro* antiglycation activity of topical cosmeceutical and pharmaceutical formulations, *British Journal of Dermatology.* 2017 Jan 1;176(1):159-67
- [53]. Kida Y., Saito M., Shinohara A., Soshi S., Marumo K.: Non-invasive skin autofluorescence, blood and urine assays of the advanced glycation end product (AGE)

pentosidine as an indirect indicator of AGE content in human bone, *BMC Musculoskeletal Disorders*. 12/27/2019, Vol. 20 Issue 1, p1-8. 8p.

[54]. Farrar M.D.: Advanced glycation end products in skin ageing and photoageing: what are the implications for epidermal function?, *Experimental dermatology*, 2016 Dec 1;25(12):947-8

[55]. Thornton M.J.: Estrogens and aging skin, *Dermato-endocrinology* 5:2, 264–270; April/May/June 2013

[56]. El-Domyati M., El-Ammawi T.S., Medhat W., Moawad O., Brennan D. Mahoney G., Uitto J.: Radiofrequency facial rejuvenation: Evidence-based effect, *J Am Acad Dermatol*. 2011 March ; 64(3): 524–535

[57]. Ahsanuddin S., Lam M., Baron E.D.: Skin aging and oxidative stress, *AIMS Molecular Science*. 2016, Vol. 3 Issue 2, p187-195. 9p

[58]. Babbar M., Basu S., Yang B., Croteau D.L., Bohr V.A.: Mitophagy and DNA damage signaling in human aging, *Mechanisms of Ageing and Development*, March 2020

[59]. Rinnerthaler M., Bischof J., Streubel M.K., Richter K., Trost A.B.: Oxidative Stress in Aging Human Skin, *Andrea. Biomolecules* (2218-273X), 2015, Vol. 5 Issue 2, p545-589. 45p

[60]. Iorio E.L., Amuso D.: Skin, oxidative stress, and nutraceuticals. From the basic research to the clinical practice, *European Journal of Aesthetic Medicine & Dermatology*, 2017 Supplement, Vol. 7, p6-22. 17p

[61]. Warraich U.-e-A., Hussain F., Kayani H.UrR.: Aging - Oxidative stress, antioxidants and computational modeling, *Heliyon*. May 2020 6(5) I: 10.1016

[62]. Prioux R., Eeman M., Rothen-Rutishauser B., Valacchi G.: Mimicking cigarette smoke exposure to assess cutaneous toxicity, *Toxicology in Vitro*, February 2020, 10.1016/j

[63]. Kleidona I.A., Karypidis D., Lowe N., Myers S., Ghanem A.: Fractional radiofrequency in the treatment of skin aging: an evidence-based treatment protocol, *Journal of Cosmetic and Laser Therapy* 2020, 22:1, 9-25

[64]. Fitzgerald R., Carqueville J., Yang P.T.: An approach to structural facial rejuvenation with fillers in women, *International Journal of Women's Dermatology* 5 (2019) 52–67

[65]. Divaris M., Blugerman G., Paul M.D.: Face expressive lifting (FEL): an original surgical concept combined with bipolar radiofrequency, *Eur J Plast Surg* (2014) 37:69–76

[66]. Alexiades-Armenakas M.R., Dever J.S., Arndt K.A.: The spectrum of laser skin resurfacing non ablative, fractional and ablative laser resurfacing, *J. Am. Acad. Dermatol*. 2008; 58: 719-737

[67]. Meaike J.D., Agrawal N., Chang D., Lee E.I., Nigro M.G.: Noninvasive Facial Rejuvenation. Part 3: Physician-Directed—Lasers, Chemical Peels, and Other Noninvasive Modalities, *Semin Plast Surg* 2016;30:143–150

[68]. Khatri K.A., Mahoney D., Hakam L.: High-fluence fractional treatment of photodamaged facial skin using a 2940 nm erbium:yttrium-aluminum-garnet laser.

J Cosmet Laser Ther, 2012 Dec; Vol. 14 (6), pp. 260-6

[69]. Lee H.M., Haw S., Kim J.E., Won C.H., Lee M.W., Choi J.H., Chang S.E., Kim Y.J., Goo B.L.: A fractional 2940 nm short-pulsed, erbium-doped yttrium aluminium garnet laser is effective and minimally invasive for the treatment of photodamaged skin in Asians, *J Cosmet Laser Ther*, 2012 Dec; Vol. 14 (6), pp. 253-9

[70]. El-Domyati M., El-Ammawi T.S., Medhat W., Moawad O., Mahoney M.G., Uitto J.: Multiple minimally invasive Erbium: Yttrium Aluminum Garnet laser mini-peels for skin rejuvenation: an objective assessment, *Jouni. Journal of Cosmetic Dermatology*. Jun2012, Vol. 11 Issue 2, p122-130. 9p

[71]. Sadick N.S., Cardona A.: Laser treatment for facial acne scars: A review, *Journal of Cosmetic & Laser Therapy*. Nov/Dec2018, Vol. 20 Issue 7/8, p424-435. 12p.

- [72]. Gold M.H., Biron J.A., Sensing W.: Facial skin rejuvenation by combination treatment of IPL followed by continuous and fractional radiofrequency, *J Cosmet Laser Ther*, 2016; Vol. 18 (1), pp. 2-6
- [73]. Theppornpitak N., Udompataikul M., Ophaswongse S., Chalermchai T., Limtanyakul P.: Nitrogen plasma skin regeneration for the treatment of mild-to-moderate periorbital wrinkles: A prospective, randomized, controlled evaluator-blinded trial, *Journal of Cosmetic Dermatology*. Feb2019, Vol. 18 Issue 1, p163-168. 6p.1.
- [74]. Holcomb J.D.: Plasma Energy Skin Rejuvenation, *Facial Plast Surg Clin North Am*, 2020 Feb; Vol. 28 (1), pp. 67-74
- [75]. Holcomb J.D., Kent K.J., Rousso D.E.: Nitrogen plasma skin regeneration and aesthetic facial surgery: multicenter evaluation of concurrent treatment, *Arch Facial Plast Surg*, 2009 May-Jun; Vol. 11 (3), pp. 184-93
- [76]. Bentkover S.H.: Plasma skin resurfacing: personal experience and long-term results, *Facial Plast Surg Clin North Am*, 2012 May; Vol. 20 (2), pp. 145-62
- [77]. Goldberg D.J.: Nonablative resurfacing, *Clin. Plast. Surg*. 2000; 27(2): 287-292
- [78]. Oktem A., Kocyigit P.: Comparison of effectiveness of 1,064-nm Nd:YAG laser and Nd:YAG laser-IPL combination treatments in hand skin rejuvenation, *J Cosmet Laser Ther*, 2016 Oct; Vol. 18 (5), pp. 270-4
- [79]. Yang C., Li Q.: A prospective study of safety and efficacy of combination therapy with bipolar radiofrequency-based intense pulsed light, infrared light, and diode laser in Chinese subjects with photoaged skin, *Journal of Cosmetic & Laser Therapy*. Oct2016, Vol. 18 Issue 6, p339-344. 6p
- [80]. Voravutinon N., Seawthaweesin K., Bureethan A., Srivipatana A., Vejanurug P.: Efficacy of diode laser (810 and 940 nm) for facial skin tightening, *Journal of Cosmetic Dermatology*. Dec2015, Vol. 14 Issue 4, pE7-E14. 8p.
- [81]. Yang C., Li Q.: A prospective study of safety and efficacy of combination therapy with bipolar radiofrequency-based intense pulsed light, infrared light, and diode laser in Chinese subjects with photoaged skin, *Journal of Cosmetic & Laser Therapy*. Oct2016, Vol. 18 Issue 6, p339-344. 6p
- [82]. DiBernardo B.E., Pozner J.N.: Intense Pulsed Light Therapy for Skin Rejuvenation In Minimally Invasive Rejuvenation of the Face and Neck, *Clinics in Plastic Surgery*. July 2016 43(3):535-540
- [83]. Barikbin B., Akbari Z., VafaeR., Razzaghi Z.: The Efficacy of IPL in Periorbital Skin Rejuvenation: An Open-Label Study, *Journal of Lasers in Medical Sciences*. 2019 Supplement, Vol. 10, pS64-S67. 4p.
- [84]. Kołodziejczak A.M., Rotsztejn H.: Mexametric and cutometric assessment of the signs of aging of the skin area around the eyes after the use of non-ablative fractional laser, non-ablative radiofrequency and intense pulsed light, *Dermatologic Therapy*. Mar/Apr2017, Vol. 30 Issue 2, 9p.
- [85]. Knight J.M., Kautz G.: Sequential facial skin rejuvenation with intense pulsed light and non-ablative fractionated laser resurfacing in fitzpatrick skin type II-IV patients: A prospective multicenter analysis, *Lasers Surg Med*, 2019 Feb; Vol. 51 (2), pp. 141-149
- [86]. Saket P., Shobeihi S., Mehrdadi S.: Study of efficacy of esthetic High-Intensity Focused Ultrasound system on Iranian skin for reducing the laxity and wrinkles of aging, *J Cosmet Dermatol*, 2017 Sep; Vol. 16 (3), pp. 336-341
- [87]. Nam J.-H., Choi Y.-J., Lim J., Min J., Kim W.-S., Lim J.Y., Min J.H.: Synergistic effect of high-intensity focused ultrasound and low-fluence Q-switched Nd:YAG laser in the treatment of the aging neck and décolletage, *Lasers in Medical Science*, Jan2017; 32(1): 109-116. 8p.

- [88]. Suh D.H., Choi J.H., Lee S.J., Jeong K.-H., Song K.Y., Shin M.K.: Comparative histometric analysis of the effects of high-intensity focused ultrasound and radiofrequency on skin, *Journal of Cosmetic & Laser Therapy*. Oct2015, Vol. 17 Issue 5, p230-236. 7p
- [89]. Ko E.J., Hong J.Y., Kwon T.R., Choi E.J., Jang Y.J., Choi S.Y., Yoo K.H., Kim S.Y., Kim B.J.: Efficacy and safety of non-invasive body tightening with high-intensity focused ultrasound (HIFU), *Skin Res Technol*, 2017 Nov; Vol. 23 (4), pp. 558-562
- [90]. Özden M.G., Bahçivan M., Aydın F., Şentürk N., Bek Y., Cantürk T., Turanlı A.Y.: Clinical comparison of potassium-titanyl-phosphate (KTP) versus neodymium:YAG (Nd:YAG) laser treatment for lower extremity telangiectases, *Journal of Dermatological Treatment*. Jun2011, Vol. 22 Issue 3, p162-166. 5p
- [91]. Al-janabi M.H., Ismaeel Ali N.T., Mohamed Al-Sabti K.D., Al-Dhalimi M.A., Abdul Wahid S.N.: A new imaging technique for assessment of the effectiveness of long pulse Nd:YAG 532 nm laser in treatment of facial port wine stain, *Journal of Cosmetic & Laser Therapy*. Nov2017, Vol. 19 Issue 7, p418-421. 4p.
- [92]. McGill D.J., MacLaren W., Mackay I.R.: A direct comparison of pulsed dye, alexandrite, KTP and Nd:YAG lasers and IPL in patients with previously treated capillary malformations, *Lasers in Surgery & Medicine*, Aug2008; 40(6): 390-398. 9p.
- [93]. Barikbin B., Ayatollahi A., Hejazi S., Saffarian Z., Zamani S.: The Use of Intense Pulsed Light (IPL) for the Treatment of Vascular Lesions, *Journal of Lasers in Medical Sciences*. Spring2011, Vol. 2 Issue 2, p73-81. 9p
- [94]. Resh B., Jones E., Glaser D.A.: The cosmetic treatment of urticaria pigmentosa with Nd:YAG laser at 532 nanometers, *Journal of Cosmetic Dermatology*. Jun2005, Vol. 4 Issue 2, p78-82. 5p
- [95]. Ali F.A.M., Mahmood A.S.: KTP (532 nm) Laser Enhances the Effect of ND:YAG (1064 nm) Laser in the Treatment of Nevus of Ota, *Iraqi Journal of Medical Sciences*. 2015, Vol. 13 Issue 1, p76-83. 8p.
- [96]. Jalaly N., Valizadeh N., Barikbin B., Yousefi M.: Low-Power Fractional CO Laser Versus Low-Fluence Q-Switch 1,064 nm Nd:YAG Laser for Treatment of Melasma: A Randomized, Controlled, Split-Face Study, *American Journal of Clinical Dermatology*. Aug2014, Vol. 15 Issue 4, p357-363. 7p.
- [97]. Zhang S., Guo L., Xiong B., Liu Y., Hou W., Lin X., Li J.: High electro-to-optical efficiency 180 W Q-switched 532 nm laser with a pulsewidth of 70 ns., *Applied Physics B: Lasers & Optics*. Sep2011, Vol. 104 Issue 4, p861-866. 6p
- [98]. Rizwan M., Shaheryar K., Zakir S.: Assessing efficacy of energy-based devices in melasma: Q-switched Nd-YAG laser vs. Intense Pulsed Light, *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*. Jan-Mar2019, Vol. 29 Issue 1, p72-77. 6p.
- [99]. Görgü M., Gökkaya A., Kizilkan J., Karanfil E., Dogan A.: Radiofrequency: Review of Literature, *Turkish Journal of Plastic Surgery*, 2019, 27, (2): 62-72
- [100]. Rodrigues de Araújo A., Campos Soares V.P., Souza da Silva F.S., da Silva Moreira T.: Radiofrequency for the treatment of skin laxity: myth or truth, *An Bras Dermatol*, 2015; 90(5):707-21
- [101]. Kim H., Park K.Y., Choi S.Y., Koh H.-J., Park S.-Y., Park W.-S., Bae I.-H., Kim B.J.: The Efficacy, Longevity, and Safety of Combined Radiofrequency Treatment and Hyaluronic Acid Filler for Skin Rejuvenation, *Ann Dermatol* Vol. 26, No. 4, 2014
- [102]. Gentile R.D.: Laser-Assisted Facelifting and Energy-Based Rejuvenation Techniques During Rhytidectomy, *Facial Plast Surg Clin N Am* 2020, 10-16
- [103]. Abraham M.T., Rousso J.J.: Capacitive Radiofrequency Skin Rejuvenation, *Aesthetic Medicine* 2011, 1007: 187-196

- [104]. Pilch W., Piotrowska A.: Rodziny białek szoku termicznego i ich rola w odpowiedzi na wysiłek fizyczny, *Antropomotoryka* 2011, 54: 121-130 141
- [105]. Rousseaux I., Robbison S.: Body Contouring and Skin Tightening Using a Unique Novel Multisource Radiofrequency Energy Delivery Method, *Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 2017, 10, (4): 24-29
- [106]. Louis F., Fuji N., Katsuyam M., Okumoto S., Matsusaki M.: Effects of radiofrequency and ultrasound on the turnover rate of skin aging components (skin extracellular matrix and epidermis) via HSP47-induced stimulation, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2020, 525: 73-79
- [107]. Elsaie M.L.: Cutaneous remodeling and photo rejuvenation using radio frequency devices, *Indian J Dermatol*, 2009, 54(3): 201-5
- [108]. Simmons B.J., Robert D, Leyre R.D.G A Falto-Aizpurua Keyvan F.-A.: Use of radiofrequency in cosmetic dermatology: focus on nonablative treatment of acne scars, *NouriClinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 2014:7 335–339
- [109]. Kumaran B., Watson T.: Thermal build-up, decay and retention responses to local therapeutic application of 448 kHz capacitive resistive monopolar radiofrequency: A prospective randomised crossover study in healthy adults, *Int J Hyperthermia*, 2015; 31(8): 883–895
- [110]. Royo de la Torre J., Moreno-Moraga J., Munoz E., Cornejo Navarro P.: 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;4(1):28–35.
- [111]. Dover J.S, Rothaus K., Gold M.H.: Evaluation of Safety and Patient Subjective Efficacy of Using Radiofrequency and Pulsed Magnetic Fields for the Treatment of Striae (Stretch Marks), *J Clin Aesthet Dermatol*. 2014, 7(9):30–33
- [112]. Meyer P.F., de Oliveira P., K B A Silva F., C S da Costa A., Pereira C., Casenave S., Rodrigo Silva R.M.V, Araújo-Neto L.G., Santos-Filho S.D., Aizamaque E., Hennes Gentil Araújo H.G, Bernardo-Filho M., Freire Carvalho M.G., Soares C.D.: Radiofrequency treatment induces fibroblast growth factor 2 expression and subsequently promotes neocollagenesis and neoangiogenesis in the skin tissue, *Lasers in Medical Science* 2017, 32: 1727–1736
- [113]. Suh D.H., Hong E.S., Kim H.S.: A survey on monopolar radiofrequency treatment, *Dermatologic Therapy*, 2017, 30:e12536
- [114]. Gentile R.D.: Laser-Assisted Facelifting and Energy-Based Rejuvenation Techniques During Rhytidectomy, *Facial Plast Surg Clin N Am* 2020, 1064-7406/20
- [115]. Bishara S.A., Saad A.D.: Nonsurgical Nonablative Treatment of Aging Skin: Radiofrequency Technologies Between Aggressive Marketing and Evidence-Based Efficacy, *Aesthetic Plastic Surgery*, 2009 33(3):283-294
- [116]. Gao L., Kang H., Li Yan, Lu M., Song W., Wang Y., Li K., Wang L.: Clinical Efficacy and Safety of 3DEEP Multisource Radiofrequency Therapy Combined with Fractional Skin Resurfacing for Periocular Skin Aging, *J Clin Aesthet Dermatol*. 2020, 13(3):41–44
- [117]. Nicoletti G., Cornaglia A.I., Faga A., Scevola S.: The Biological Effects of Quadripolar Radiofrequency Sequential Application: A Human Experimental Study, *Photomedicine*

and Laser Surgery 2014, 32(10): 561–573

[118]. Paul M., Blugerman G., Kreindel M., Mulholland R.S.: Three-Dimensional Radiofrequency Tissue Tightening: A Proposed Mechanism and Applications for Body Contouring, *Aesth Plast Surg* (2011) 35: 87–95 142

[119]. Alessa D., Bloom, J.D: Microneedling Options for Skin Rejuvenation, Including Non-temperature- controlled Fractional Microneedle Radiofrequency Treatments, *Facial Plast Surg Clin N Am* 2020; 28, 1–7

[120]. El-Domyati M., El-Ammawi T.S., Medhat W., Moawad O., MDc, Brennan D., Mahoney G., Jouni Uitto J.: Radiofrequency facial rejuvenation: Evidence-based effect, *J Am Acad Dermatol*. 2011 March ; 64(3): 524–535

[121]. Alexiades M.: Microneedle Radiofrequency, *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, 2020, 28 (1): 9-15

[122]. Kruglikov I.L.: Influence of the Dermis Thickness on the Results of the Skin Treatment with Monopolar and Bipolar Radiofrequency Currents, *BioMed Research International*, 2016,1953203.

[123]. Divaris M., Boisnic S., Branchet M.C.: A clinical and histological study of radiofrequency-assisted liposuction (RFAL) mediated skin tightening and cellulite improvement, *J Chem Dermatol Sci Appl* 2011; 1:36–42

[124]. Amy F.Taub Tucker R.D., Palange A.: Facial Tightening With an Advanced 4-MHz Monopolar Radiofrequency Device, November 2012,| Issue 11,1288

[125]. Wakade D.V., Nayak Ch.S., Bhatt K.D.: A study comparing the efficacy of monopoly radiofrequency and glycolic acid peels in facial rejuvenation of aging skin using histopathology and ultrabiomicroscopic sonography (UMB) - an evidence based study, *Acta Medica* 2016; 59(1):14–17

[126]. Weiner S.F.: Radiofrequency Microneedling Overview of Technology, Advantages, Differences in Devices, Studies, and Indications, *Facial Plast Surg Clin N Am* 27, 2019, 291–303

[127]. Sachdev M., Hameed S., Mysore V.: Nonablative lasers and nonlaser systems in dermatology: Current status, *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, 2011 |Vol 77

[128]. Gershonowitz A., Gat A.: VoluDerm microneedle technology for skin treatments—In vivo histological evidence, *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 2015; 17: 9–14

[129]. Ferraz de Oliveira T.K., de Fatima Soares Rocha S., Gontijo Ramos D., Gontijo Ramos C., dos Anjos Carvalho M.V., Gontijo Ramos M.: Effects of Multipolar Radiofrequency and Pulsed Electromagnetic Field Treatment for Face and Neck Rejuvenation, *Dermatology Research and Practice* Volume 2017, 4146391

[130]. Elman M., Yoram Harth Y.: Novel multi-source phase-controlled radiofrequency technology for non-ablative and micro-ablative treatment of wrinkles, lax skin and acne scars, *Laser Therapy* 2011, 20.2: 139-144

[131]. Locketz G.D., Bloom J.D.:Percutaneous Radiofrequency Technologies for the Lower Face and Neck, *Facial Plast Surg Clin N Am* 27, 2019, 305–320

[132]. Kaplan H., Kaplan L.: Combination of microneedle radiofrequency (RF), fractional RF

- skin resurfacing and multi-source non-ablative skin tightening for minimal-downtime, fullface skin rejuvenation, *Journal of CosmetiC and laser therapy*, 2016, 18 (8): 438–441
- [133]. Alessa D., . Bloom J.D.: Microneedling Options for Skin Rejuvenation, Including Non–temperature-controlled Fractional Microneedle Radiofrequency Treatments, *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, 2020, 28 (1): 1-7 143
- [134]. Sooil Chun S.: Fractional microneedling radiofrequency and fractional 1927 nm thulium laser treatment offer synergistic skin rejuvenation: A pilot case series, *Laser Therapy* 2018, 27.4: 283-291
- [135]. Elawar A., Dahan S.: Non-insulated Fractional Microneedle Radiofrequency Treatment with Smith Motor Insertion for Reduction of Depressed Acne Scars, Pore Size, and Skin Texture Improvement: *J Clin Aesthet Dermatol.* 2018, 11(8): 41-44
- [136]. Aniseh Samadi A., Nasrollahi S.A., Janani L., Moosavi Z.B., Hesari K.K., Kalantari A.R., Alireza Firooz A.: Combination of Fractional Radiofrequency and Thermo-Contraction Systems for Facial Skin Rejuvenation: A Clinical and Histological Study, *Aesthetic Surgery Journal*, 2018, 38 (12): 1341– 1350
- [137]. Beasley K.L., Weiss R.A.: Radiofrequency in Cosmetic Dermatology, *Dermatol Clin* 32 2014, 79–90
- [138]. Kim H.-K., Choi J.-H.: Effects of radiofrequency, electroacupuncture, and low-level laser therapy on the wrinkles and moisture content of the forehead, eyes, and cheek, *J Phys. Ther. Sci.* 29: 290–294, 2017
- [139]. Seo K.Y., MD, Yoon M.S.,MD, Kim D.H. MD, Lee H.J.: Skin rejuvenation by microneedle fractional radiofrequency treatment in Asian skin; Clinical and histological analysis, *Lasers in Surgery and Medicine*, 2012, 44, (8): 631-636
- [140]. Erkiert-Polguj A., Algiert-Zielinska B., Kamila Zdunska K., Markiewicz A., Janusz Skubalski, Helena Rotsztejn: The evaluation of elasticity after nonablative radiofrequency rejuvenation, *J Cosmet Dermatol.*, 2019, 18:511–516
- [141]. Yu V., Juhasz M., Atanaskova Mesinkovska N.:Subcutaneous Radiofrequency Microneedling for the Treatment of Thigh Skin Laxity Caused by Weight Loss: A Case Study, *J Clin Aesthet Dermatol.*, 2019, 12(6):60–62
- [142]. Dayan E., Chia Ch., Burns A.J., Theodorou S.: Adjustable Depth Fractional Radiofrequency Combined With Bipolar Radiofrequency: A Minimally Invasive Combination Treatment for Skin Laxity, *Aesthetic Surgery Journal*, 2019, Vol 39(S3) 112–119
- [143]. Abraham M.T., Joseph J. Rousso J.J.: Radiofrequency Skin Rejuvenation, *Cosmetic Surgery* 2012, 195-204
- [144]. Wollina U., Alberto Goldman A.: Minimally invasive aesthetic procedures in young adult; *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 2011;4 19–26
- [145]. Alexiades M.: Microneedle Radiofrequency, *Facial Plast Surg Clin N Am* 2020, 28: 9-15
- [146]. Munavalli G.G.: Radiofrequency Microneedling, *Advances in Cosmetic Surgery*, 2020, 3: 25–38
- [147]. Savoia A., Vannini F., Baldi A.: Radiofrequency Waves with Filling and Peeling Substances: an Innovative Minimally Invasive Technique for Facial Rejuvenation, *Dermatol Ther* 2011, 1(1): 2-10.

- [148]. Loesch M.M., Somani A.-K., Melanie M Kingsley M.M., Travers J.B., Spandau D.F.: Skin resurfacing procedures: new and emerging options, *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 2014;7 231–241 144
- [149]. Kim H.-K., Kyoung-oK, CHoi J.-H., Soon-Hee Kim S.-H.: Effects of low-level laser therapy, electroacupuncture, and radiofrequency on the pigmentation and skin tone of adult women, *J. Phys. Ther. Sci.*, 2016, 28: 1407–1411
- [150]. Abraham M.T., Rousso J.J.: Capacitive Radiofrequency Skin Rejuvenation, *Cosmetic Surgery* 2012, 195-204
- [151]. Diaz D., Boonsiri M., Okawa J., Dekaranes D., Ditre Ch.M.: Oxygeneo®—A Unique Three-in-one Treatment of Exfoliation, Infusion, and Oxygenation via the Bohr Effect and TriPollar™ Radiofrequency for Skin Rejuvenation, *Aesthet Dermatol.*, 2017, 10(11):22–25
- [152]. Seok J., Kim J.H., Kim J.M., Kwon T.R., Choi S.Y., Li K., Kim B.J.: Effects of Intradermal Radiofrequency Treatment and Intense Pulsed Light Therapy in an Acne-induced Rabbit Ear Model, *Scientific RepoRts*, 2019, 9:5056
- [153]. Stiegler J., Weinstein M.: Therapies for Acne Scarring, *Advances in Cosmetic Surgery* 2020, 3: 15–24
- [154]. Sachdev., Hameed S., Mysore V.: Nonablative lasers and nonlaser systems in dermatology: Current status, *Current status. Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2011; 77: 380-8.
- [155]. Nicoletti G., Perugini P., Bellino S., Capra P., Malovini A., Jaber O., Tresoldi M., Faga A.: Scar Remodeling with the Association of Monopolar Capacitive Radiofrequency, Electric Stimulation, and Negative Pressure, *Photomedicine and Laser Surgery*, 2017, Volume 35, Number 5, 246–258
- [156]. Sharad J.: Nonablative facelift in Indian skin with superposed radiofrequency, *Indian Dermatol Online J.*, 2011, 2(1): 6-9
- [157]. Tanaka Y.: Objective Assessment of Skin Tightening Using Multisource, Phase-Controlled Radiofrequency in Asians, *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 2013, 3, 110-116
- [158]. Kaplan H., Kaplan L.: Combination of microneedle radiofrequency (RF), fractional RF skin resurfacing and multi-source non-ablative skin tightening for minimal-downtime, fullface skin rejuvenation , *Journal of CosmetiC and laser therapy*, 2016, 18, (8): 438–441
- [159]. Gold M.H.: Update on Tissue Tightening, *Aesthetic Update*, 2010, 3, (5): 36-41
- [160]. Tanaka Y.: Skin Tightening Following Multisource, Phase-controlled Radiofrequency Treatments with Novel Unique Concentric Electrodes in Asian Patients, *J Clin Aesthet Dermatol.* 2019, 12(12); 58-63
- [161]. Erkiert-Polguj A., Algiert-Zielinska B., Zdunska K., Markiewicz A., Skubalski J., Rotsztejn H.: The evaluation of elasticity after nonablative radiofrequency rejuvenation, *J Cosmet Dermatol.*, 2019, 18:511–516.
- [162]. Tanaka Y.: Skin Tightening Following Multisource, Phase-controlled Radiofrequency Treatments with Novel Unique Concentric Electrodes in Asian Patients, *J Clin Aesthet Dermatol.*, 2019, 12(12): 58–63

- [163]. Theodorou S.J., Paresi R.J., Chia C.T.: Radiofrequency-assisted liposuction device for body contouring: 97 patients under local anesthesia. *Aesthetic Plast Surg*, 2012, 36(4):767–79.
- [164]. Pinherio N.M., Crema V.O., Millan B.M., Carvalho F.A., Mendonca A.C.: Comparison of the effects of carboxytherapy and radiofrequency on skin rejuvenation, *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 2015, 17: 156–161
- [165]. Kwon H.H., Lee W.-Y., Choi S.Ch., Jung J.Y., Bae Y., Park G.-H.: Combined treatment for skin laxity of the aging face with monopolar radiofrequency and intense focused ultrasound in Korean subjects, *Journal of cosmetic and laser therapy*, 2018, 20, (7–8): 449-453 145
- [166]. Suh D.H., Ghoi J.H., Lee S.J., Jeong K.-H., Song K.Y., shin M.K.: Comparative histometric analysis of the effects of high-intensity focused ultrasound and radiofrequency on skin, *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 2015, (17): 230–236
- [167]. Seo K.Y., Kim D.H., Lee S.E., Yoon M.S., Lee H.J.: Skin rejuvenation by microneedle fractional radiofrequency and a human stem cell conditioned medium in Asian skin: a randomized controlled investigator blinded split-face study, *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 2013, 15: 25–33
- [168]. Wakade D. V., Nayak Ch.S., Bhatt K.D.: A study comparing the efficacy of monopolar radiofrequency and glycolic acid peels in facial rejuvenation of aging skin using histopathology and ultrabiomicroscopic sonography (UMB)-an evidence based study, *Acta Medica*, 2016; 59(1):14–17
- [169]. Staempfli R.: Reversible electric breakdown of the excitable membrane of a Ranvier node, *Acad Bras Cienc*, 1958, 30:57–63
- [170]. Eigen M., DeMaeyer L.: Relaxation methods. In: Friess SL, Lewis SL, Weissberger A (eds) *Techniques of organic chemistry*. Wiley, New York, 1963, pp 895–1054
- [171]. Neumann E., Kakorin S.: Membrane electroporation: chemical thermodynamics and flux kinetics revisited and refined, *European Biophysics Journal*, 2018, (47): 373–387
- [172]. Skrynska O., Antonova-Rafi J., Khudetskyy I.: Treating skin with use of electroporation, *Biomedicinskaâ Inženeriâ i Ëlektronika*, 2019, 0, (1)
- [173]. Bořckmann R.A., de Groot B.L., Kakorin S., Neumann E., Grubmüller H.: Kinetics, Statistics, and Energetics of Lipid Membrane Electroporation Studied by Molecular Dynamics Simulations, *Biophysical Journal*, 2008, 95, 1837–1850
- [174]. Golberg A., Khan S., Belov V., Quinn K.P., Albadawi H., Broesch G.F., Watkins M.T., Georgakoudi I., Papisov M., Mihm Jr M.C., Austen Jr. W.G., Yarmush M.L.: Skin Rejuvenation with Non-Invasive Pulsed Electric Fields, *Sci Rep*, 2015, (5): 10187
- [175]. Gupta R., Rai B.: Method and system for in-silico design of skin electroporation 2019, 16/046, 239
- [176]. Essa E.A., Bonner M.C., Barry B.W.: Electroporation and ultradeformable liposomes; human skin barrier repair by phospholipid, *Journal of Controlled Release*, 2003, 92, 163–172
- [177]. Wong T.W.: Electrical, magnetic, photomechanical and cavitation waves to overcome skin barrier for transdermal drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 2014, 193, 257–269
- [178]. Misiak H., Kubica K.: Wpływ produktów utlenienia lipidów na właściwości oraz proces elektroporacji dwuwarstwowych płaskich błon lipidowych, *Inżynieria biomedyczna*, 2017, 23, (4): 229-245
- [179]. Ita K.: Perspectives on Transdermal Electroporation, *Pharmaceutics*, 2016, 8, (9)

- [180]. Hyder I., Eghbalsaid S., Kues W.A.: Systematic optimization of square-wave electroporation conditions for bovine primary fibroblasts, *Molecular and Cell Biology*, 2020, 21:9, s12860-020-00254-5
- [181]. Kichaev G., Mendoza J.M., Amante D., RF Smith T., R McCoy J., Y Sardesai N., e Broderick K.: Electroporation mediated DNA vaccination directly to a mucosal surface results in improved immune responses, *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2013, 9:10, 2041–2048
- [182]. Huysmans H., Zhong Z., De Temmerman J., Mui B.L., Tam Y.K., Mc Cafferty S., Gitsels A., Vanrompay D., Sanders N.N.: Expression Kinetics and Innate Immune Response after Electroporation and LNP-Mediated Delivery of a Self-Amplifying mRNA in the Skin, *Molecular Therapy: Nucleic Acids*, 2019, (17): 867-878
- [183]. Potočník T., Miklavčič D., Maček Lebar A.: Effect of electroporation and recovery medium pH on cell membrane permeabilization, cell survival and gene transfer efficiency in vitro, *Bioelectrochemistry*, 2019, 130, 107342
- [184]. Pedersoli F., Ritter A., Zimmermann M., Schulze-Hagen M., Liebl M., Dethlefsen E., von Stillfried S., Pfeffer J., Kuhl Ch.K., Bruners P., Isfort P.: Single-needle electroporation and interstitial electrochemotherapy: in vivo safety and efficacy evaluation of a new system, *European Radiology*, 2019, (29): 6300–6308
- [185]. Michel O., Pakhomov A.G., Casciola M., Saczko J., Kulbacka J., Pakhomova O.N.: Electroporation does not correlate with plasma membrane lipid oxidation, *Bioelectrochemistry*, 2020, 132, 107433
- [186]. Cemazar M., Sersa G., Frey W., Miklavcic D., Teissie J.: Recommendations and requirements for reporting on applications of electric pulse delivery for electroporation of biological samples, *Bioelectrochemistry*, 2018, 122, 69–76
- [187]. Miklavcic D., Novickij V., Kranjc M., Polajzer T., Meglic S.H., Tina Batista Napotnik T.B., Romih R., Lisjak D.: Contactless electroporation induced by high intensity pulsed electromagnetic fields via distributed nanoelectrodes, *Bioelectrochemistry*, 2020, 132, 107440
- [188]. Zhao R., Wang Ch., Lu F., Du L., Fang Z., Guo X., Liu J.-T., Chen Ch.-J., Zhao Z.: A Flexible Interdigital Electrode Used in Skin Penetration Promotion and Evaluation with Electroporation and Reverse Iontophoresis Synergistically, *Sensors*, 2018, 18, 1413; doi:10.3390/s18051413
- [189]. Münch S., Wohlrab J., Neuber R.H.H.: Dermal and transdermal delivery of pharmaceutically relevant macromolecules, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2017, 119, 235–242
- [190]. Neumann E., Kakorin S.: Membrane electroporation: chemical thermodynamics and flux kinetics revisited and refined, *European Biophysics Journal*, 2018, (47): 373–387
- [191]. Young J.L., Dean D.A.: Electroporation-Mediated Gene Delivery, *Adv Genet.*, 2015, (89): 49–88.
- [192]. Zu Y., Liu X., Chang A.-Y., Wang S.: Flow micropillar array electroporation to enhance size specific transfection to a large population of cells, *Bioelectrochemistry*, 2020, 132, 107417
- [193]. Anirudhan T.S., Nair S.S.: Development of voltage gated transdermal drug delivery platform to impose synergistic enhancement in skin permeation using electroporation and gold nanoparticle, *Materials Science and Engineering*, 2019 (102): 437-446
- [194]. Golberg A., Villiger M., Khan S., Quinn K.P., Lo W.C.Y., Bouma B.E., Mihm Jr. M.C., Austen Jr. W.G., Yarmush M.L.: Preventing Scars after Injury with Partial Irreversible Electroporation, *J Invest Dermatol.* 2016 November, 2016, 136(11): 2297-2304
- [195]. Kmiec M.L.: Znaczenie pomiarów parametrów czynnościowych skóry w ocenie funkcji bariery naskórkowej, *JHSM*, 2016, 2, 23-50
- [196]. Chomiczewska D., Kieć-Świerczyńska M., Kręcis B.: Kontaktowe zapalenie skóry z podrażnienia. Część III. Nieinwazyjne metody oceny właściwości biofizycznych skóry, *Medycyna Pracy*, 2010, 61(4):457–466

- [197]. Mahrhauser D., Nagelreiter C., Baierl A., Skipiol J., Valenta C.: Influence of a multiple emulsion, liposomes and a microemulsion gel on sebum, skin hydration and TEWL, *International Journal of Cosmetic Science*, 2015, 37(2):181-186
- [198]. Yuan Ch., Zou Y., Xueqiu Y., Shima K., Miyauchi Y., Naoe A., Naito S., Fujimura T., Hotta M., Kitahara T., Wang X.: Properties of Skin in Chinese Infants: Developmental Changes in Ceramides and in Protein Secondary Structure of the Stratum Corneum, *BioMed Research International*, 2017, p1-6. 6p
- [199]. Bargo P.R., Walston S.T., Chu M.S., Seo I., Kollias N.: Non-invasive assessment of tryptophan fluorescence and confocal microscopy provide information on skin barrier repair dynamics beyond TEWL, *Experimental Dermatology*, 2013, 22, (1): 18-23
- [200]. Denzinger M., Rothenberger J., Manuel H., Leonard J., Ehnert S., Kolbensschlag J., Daigeler A., Krauss S.: A quantitative study of transepidermal water loss (TEWL) on conventional and microclimate management capable mattresses and hospital beds, *Journal of Tissue Viability*, 2019, 28(4):194-199
- [201]. Alamankin D., Plotnikova N.: Studing pathophysiological features of skin aging in men through using the cutometer and ultrasound, *Vestnik Mordovskogo Universiteta*, 2016, 26(1):082-089
- [202]. Rosado C., Barbosa R., Fernando R., Antunes F., Rodrigues L.M.: Study of the effect of epidermal overhydration by occlusion, on the skin biomechanical behaviour assessed in vivo with the systems Cutometer®, Reviscometer® and CutiScan®, *Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research (BBR)*, 2015, 12(2):203-213
- [203]. Woo M.S., Moon K.J., Jung H.Y., Park S.R., Moon T.K., Kim N.S., Lee B.C.: Comparison of skin elasticity test results from the Ballistometer® and Cutometer®, *Skin Research & Technology*, 2014, 20(4): 422-428
- [204]. Prakash Ch., Bhargava P., Tiwari S., Majmudar B., Bhargava R.K.: Skin Surface pH in Acne Vulgaris: Insights from an Observational Study and Review of the Literature, *Journal of Clinical & Aesthetic Dermatology*, 2017, 10(7):33-39
- [205]. Tarun J., Susan J., Suria J., Jacob S., John V., Criton S.: Evaluation of pH of Bathing Soaps and Shampoos for Skin and Hair Care, *Indian Journal of Dermatology*, 2014, 59(5):442-444
- [206]. Qian C.Y., Yuan C., Tan Y.M., Liu X.P., Dong Y.Q., Yang L.Y., Wu P.L., Wang X.M.: Comparing performance of Chromameter®, Mexameter® and full-field laser perfusion imaging for measurement of ultraviolet B light-induced erythema, *Clinical and Experimental Dermatology*, 2015 40(4):438-440
- [207]. Matias A.R., Ferreira M., Costa P., Neto P.: Skin colour, skin redness and melanin biometric measurements: comparison study between Antera® 3D, Mexameter® and Colorimeter®, *Skin Research and Technology*, 2015 21(3):346-362
- [208]. Baquié M., Kasraee B.: Discrimination between cutaneous pigmentation and erythema: Comparison of the skin colorimeters Dermacatch and Mexameter, *Skin Research and Technology*, 2014 20(2):218-227
- [209]. Hyunki L., Young K.M.: Automatic Optical Inspection System with Telecentric Optics and Phase-measuring Profilometry for Highly Accurate Localization of Electronic Packages, *International Journal of Control, Automation and Systems*, 18(8):2120-2130
- [210]. Trivisonno A., Rossi A., Monti., Di Nunno D., Desouches Ch., Cannistra C., Toietta G.: Facial skin rejuvenation by autologous dermal microfat transfer in photoaged patients: Clinical evaluation and skin surface digital profilometry analysis *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. August 2017 70(8):1118-1128
- [211]. Delvenne M., Piérard-Franchimont C., Seidel L., Albert A., Piérard G.E.: The weatherbeaten dorsal hand clinical rating, shadow casting optical profilometry, and skin capacitance mapping, *BioMed Research International*, 2013, 913646

[212]. Gold M.H., Biron J., Levi L., Sensing W.: Safety, efficacy, and usage compliance of home-use device utilizing RF and light energies for treating periorbital wrinkles, *Journal of Cosmetic Dermatology*, 2016, 16, 95-102

15. SPIS RYCIN

Ryc. 1. Budowa skóry [opracowanie własne].	9
Ryc. 2. Wizualne aspekty starzenia się twarzy [opracowanie własne]	23
Ryc. 3. Certyfikowana medycznie aparatura Intraject wyposażona w radiofrekwencję monopolarną z elektroporacją firmy Biotec Italia [zdjęcie własne].	70
Ryc. 4. Aparat Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic [zdjęcie własne].	72
Ryc. 5. Kutometr aparatu Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic [zdjęcie własne].	72
Ryc. 6. Korneometr aparatu Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic [zdjęcie własne].	73
Ryc. 7. Tewametr aparatu Multi Skin Test Center MC 750 Courage + Khazaka Eletronic [zdjęcie własne].	74
Ryc. 8. Rokzład wieku badanych osób	76
Ryc. 9. Przechodzenie przez proces menopauzy wśród osób badanych - wyniki ankiety	77
Ryc. 10. Typy skóry osób badanych według klasyfikacji Fitzpatrick'a - ankieta	78
Ryc. 11. Przyczyny przesuszenia skóry - ankieta	79
Ryc. 12. Występowanie przesuszenia skóry - ankieta	80
Ryc. 13. Narażenie na czynniki fizykochemiczne - ankieta	81
Ryc. 14. Narażenie w pracy na czynniki szkodliwe dla skóry - ankieta	81
Ryc. 15. Ocena subiektywna stopnia nasilenia przesuszenia skóry twarzy z podziałem na lokalizację - wyniki średnie	82
Ryc. 16. Całościowa ocena subiektywna nasilenia przesuszenia skóry twarzy - wyniki ankiety 3 miesiące po zakończeniu terapii	83
Ryc. 17. Sposoby radzenia sobie z problemem przesuszonej skóry w grupie badanej – wyniki ankiety	84
Ryc. 18. Ocena subiektywna parametrów skóry w grupie badanej – wyniki średnie	85
Ryc. 19. Całościowa ocena subiektywna zmiany wyglądu skóry w grupie badanej – wyniki ankiety 3 miesiące po zakończeniu terapii	86
Ryc. 20. Ocena subiektywna efektów terapii poszczególnych miejsc twarzy w grupie badanej – wyniki średnie	87
Ryc. 21. Ocena subiektywna całkowitego rezultatu - wyniki ankiety 3 miesiące po zakończeniu terapii	88
Ryc. 22. Moment zaobserwowania efektu terapii – badania ankietowe	89
Ryc. 23. Wystąpienie podrażniania skóry podczas zabiegu lub po zabiegu - badania ankietowe	89
Ryc. 24. Wyniki korneometrii z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV	93
Ryc. 25. Różnica wyników korneometrii z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV	94
Ryc. 26. Wyniki kutometrii z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV	97
Ryc. 27. Różnica wyników kutometrii z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV	98
Ryc. 28. Wyniki TEWL z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV	102
Ryc. 29. Różnica wyników TEWL z uwzględnieniem strony twarzy w badaniu I, II, III i IV	102
Ryc. 30. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 57 letniej probantki	105
Ryc. 31. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 58 letniej probantki.	105

Ryc. 32. Przed zabiegami (a), miesiąc po pierwszym zabiegu (b), 90 dni po drugim zabiegu (c), 90 dni po trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 41 letniej probantki.	106
Ryc. 33. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 47 letniej probantki.	106
Ryc. 34. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 42 letniej probantki.	107
Ryc. 35. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 44 letniej probantki.	107
Ryc. 36. Przed zabiegami (a), miesiąc po pierwszym zabiegu (b), 90 dni po drugim zabiegu (c), 90 dni po trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 41 letniej probantki.	108
Ryc. 37. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 47 letniej probantki.	108
Ryc. 38. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 53 letniej probantki.	109
Ryc. 39. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 55 letniej probantki.	109
Ryc. 40. Przed terapią (a) i 90 dni po (b) trzecim zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją u 47 letniej probantki.	110

16. SPIS TABEL

Tabela 1. Główne typy kolagenu występujące w skórze [na podstawie 7].	18
Tabela 2. Funkcje tkanki podskórnej [na podstawie 31].	21
Tabela 3. Czynniki uwalniane przez tkankę tłuszczową [na podstawie 31].	21
Tabela 4. Zmiany histologiczne spowodowane starzeniem w poszczególnych warstwach skóry [opracowanie własne na podstawie 5, 36 - 40].	24
Tabela 5. Przenikanie promieniowania UV przez skórę. Promieniowanie UVC, mimo iż cechuje się najwyższą energią i wykazuje działanie rumieniотwórcze, bakteriobójcze oraz uszkodzające rogówkę; nie oddziałuje znacząco na skórę w wyniku prawie całkowitej absorpcji przez warstwę ozonową atmosfery [opracowanie własne na podstawie 42, 47, 56].	29
Tabela 6. Czynniki wpływające na ekspresję HSP [opracowanie na podstawie 104].	38
Tabela 7. Molekularne mechanizmy procesu gojenia. Interleukina 4, 10 (IL - 4, - 10), tkankowy inhibitor metaloproteazy (<i>tissue inhibitors of metalloproteinase</i> - TIMP), czynnik wzrostu hepatocytów (<i>hepatocyte growth factor</i> - HGF), czynnik wzrostu fibroblastów (<i>fibroblast growth factor</i> - FGF), czynnik wzrostu naskórka (<i>epidermal growth factor</i> - EGF), czynnik wzrostu keratynocytów (<i>keratinocyte growth factor</i> - KGF) [120].	43
Tabela 9. Wyniki badania korneometrycznego z uwzględnieniem strony twarzy, analiza opisowa i statystyczna	90
Tabela 10. Wyniki badania korneometrycznego z uwzględnieniem strony twarzy przed i po zabiegu, analiza opisowa i statystyczna	92
Tabela 11. Wyniki badania kutometrycznego z uwzględnieniem strony twarzy, analiza opisowa i statystyczna	95
Tabela 12. Wyniki badania kutometrycznego z uwzględnieniem strony twarzy przed i po zabiegu, analiza opisowa i statystyczna	96
Tabela 13. Wyniki badania TEWL z uwzględnieniem strony twarzy, analiza opisowa i statystyczna.	98
Tabela 14. Wyniki badania TEWL z uwzględnieniem strony twarzy przed i po zabiegu, analiza opisowa i statystyczna.	101
Tabela 15. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i fototypu skóry - analiza opisowa i statystyczna.	104
Tabela 16. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i wieku badanych - analiza opisowa i statystyczna.	111
Tabela 17. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i przyczyn przesuszenia skóry - analiza opisowa i statystyczna.	112
Tabela 18. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i okresu występowania przesuszenia skóry - analiza opisowa i statystyczna.	114
Tabela 19. Wyniki badań korneometru, kutometru, TEWL z uwzględnieniem strony twarzy i menopauzy - analiza opisowa i statystyczna.	115

17. 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 Stomatologicum
ul. Bukowska 70
60-812 Poznań

tel. (+48 61) 854 73 36
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 176/19

Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarzy i lekarzy dentysty (t.j. Dz. U. z 2016 r., poz. 617 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. z 1999 r., Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 2211 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2004 Nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005 r. zmieniającego rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2005 r. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. z 2004 r. Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. z 2004 r. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 17 lutego 2016 r. w sprawie wzorów wniosków związanych z badaniem klinicznym wyrobu medycznego lub aktywnego wyrobu medycznego do implantacji oraz wysokości opłat za złożenie tych wniosków (Dz. U. z 2016 r., poz. 208); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 211, 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. z 2010 r. Nr 194, poz. 1290); Ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (t.j. Dz. U. z 2016 r., poz. 1718 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. z 2012 r., poz. 489); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 12 października 2018 r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. z 2018 r., poz. 1994); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznych z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 07 lutego 2019 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu: prof. zw. dr hab. Leszek Kubisz

Miejsce prowadzenia badań:

**Zakład Biofizyki, Katedra Biofizyki
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu**

Główny badacz: mgr Karolina Marcinkowska

Członkowie zespołu

badawczego: prof. zw. dr hab. Leszek Kubisz

Temat badań:

„Ocena skuteczności synergii radiofrekwencji monopolarnej i elektroporacji w terapii anti-aging na podstawie wybranych parametrów biofizycznych skóry twarzy”.

Okres prowadzenia badań: luty 2019 r. – luty 2020 r.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

**potwierdza się zgodność
z oryginałem**

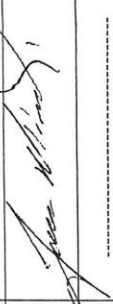
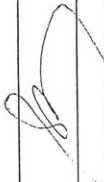
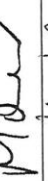
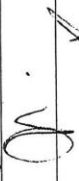
2019-02-26

Sekretariat Komisji Bioetycznej
przy Uniwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
mgr inż. Barbara Undrych
tel. 61 854 62 51
e-mail: bundrych@ump.edu.pl

Przewodniczący Komisji

prof. zw. dr hab. med. Paweł Chęciński

Podpisy członków Komisji Bioetycznej podejmujących Uchwałę nr 176/19 z dnia 07.02.2019r.

Lp.	Imię i Nazwisko	Specjalność	Miejsce Pracy	Podpis
1.	Przewodniczący Komisji prof. dr hab. Paweł Chęciński	chirurgia ogólna, naczyniowa i angiologia	Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii UMP, ZOZ MSWiA, ul. Dojazd 34, 60-631 Poznań.	
2.	Z-ca Przewodniczącego Komisji prof. dr hab. Janusz Wiśniewski	filozof	Wydział Nauk Politycznych i Dziennikarstwa UAM, ul. Umultowska 89A, 61-614 Poznań.	
3.	prof. dr hab. Zygmunt Adamski	dermatologia i wenerologia	Katedra i Klinika Dermatologii UMP, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań	-----
4.	dr Krystyna Babiak	prawnik	Kancelaria Rady Prawnego, dr Krystyna Babiak, ul. Czartoria 1/2, 61-102 Poznań.	
5.	ks. prof. UAM dr hab. Andrzej Bohdanowicz	teologia	Wydział Teologiczny Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Wieżowa 2/4, Poznań	-----
6.	prof. dr hab. Maciej Krawczyński	genetyka kliniczna, okulistyka	Katedra i Zakład Genetyki Medycznej UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
7.	mgr Jolanta Łojko-Kołodziejczak	pielęgniarka	Pielęgniarka Oddziałowa Izby Przyjęć Pediatrii Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
8.	mgr Krystyna Malinger	farmaceuta	Apteka Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
9.	prof. dr hab. Andrzej Marszałek	patomorfologia	Katedra i Zakład Patologii i Profilaktyki Nowotworów UMP, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań.	
10.	prof. dr hab. Maciej Owecki	choroby wewnętrzne, endokrynologia	Zakład Zdrowia Publicznego UMP, ul. Dąbrowskiego 79, 60-529 Poznań.	
11.	prof. dr hab. Wojciech Szluzewski	pediatria, neurologia dziecięca, choroby zakaźne	Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
12.	prof. dr hab. Robert Spaczyński	ginekologia i położnictwo	Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
13.	dr med. Piotr Tomczak	onkologia kliniczna, radioterapia	Klinika Onkologii UMP, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań.	
14.	prof. dr hab. Joanna Twarowska- Hauser	psychiatria	Klinika Psychiatrii Dorosłych, Zakład Genetyki w Psychiatrii UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
15.	prof. dr hab. Henryk Wysocki	choroby wewnętrzne, kardiologia	Wyższa Szkoła Pedagogiki i Administracji im. Mieszka I w Poznaniu, ul. Bułgarska 55, 60-320 Poznań.	

prof. dr hab. Henryk Wysocki
Kierownik Komisji Bioetycznej
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
mgr inż. Barbara Undrych
tel. 61 854 62 51
e-mail: bundrych@ump.edu.pl

potwierdza się zgodność
z oryginałem

2019-02-26

ZAŁĄCZNIK NR 2

FORMULARZ ŚWIADOMEJ ZGODY PACJENTA NA UDZIAŁ W BADANIU

Zostałam szczegółowo poinformowana o:

- procedurze i technice wykonania zabiegu
- przeciwwskazaniach do przeprowadzenia zabiegu,
- zakresu działania oraz pochodzeniu preparatów, które zostaną użyte do wykonania zabiegu,
- indywidualnych i realnych rezultatach zabiegowych,
- wszelkich reperkusjach i możliwych skutkach ubocznych zabiegu,
- wskazaniach pozabiegowych,
- okresie czasu utrzymywania się osiągniętego efektu zabiegowego,
- okresie czasu po upływie którego wskazane jest przeprowadzenie kolejnego zabiegu,
- minimalnej ilości zabiegów, niezbędnych do utrzymania osiągniętego efektu.

Uzyskałam rzetelną informację w zakresie sposobu przygotowania się do zabiegu w warunkach domowych oraz sposobu przedzabiegowej i pozabiegowej pielęgnacji skóry, co ma istotne znaczenie w osiągnięciu rezultatu zabiegowego.

Zostałam poinformowana także o odmienności w zakresie efektywności zabiegowej w przypadku każdego pacjenta. Przekazano mi również niezbędną informację na temat wszelkich ewentualnych powikłań i reperkusji.

Przed rozpoczęciem wykonania procedury zabiegowej udzieliłam wszelkich i prawdziwych odpowiedzi na pytania, które zostały mi zadane w trakcie wywiadu: mojego stanu zdrowia, istnienia/braku ciąży, przyjmowanych leków, przebytych zabiegów, stosowanej pielęgnacji.

Informacja przekazana przeze mnie jest w pełni rzetelna, wyczerpująca i zrozumiała dla mnie. Jestem świadoma, że pojawienie się ewentualnych negatywnych następstw i powikłań, o których zostałam poinformowana przed wykonaniem zabiegu nie uprawia mnie do roszczeń odszkodowawczych.

Jestem także świadoma, że podstawą roszczeń nie może być rozbieżność pomiędzy rezultatem, którego zakres i rodzaj został dokładnie określony przed przystąpieniem do zabiegu a moimi oczekiwaniami. W trakcie rozmowy miałam możliwość zadawania pytań dotyczących proponowanego zabiegu. Uzyskałam pełne spektrum informacji o możliwości odstąpienia od badania na każdym jego etapie.

Ponadto, wyrażam zgodę na przetwarzanie moich danych związanych z udziałem w eksperymencie przez osobę lub inny podmiot przeprowadzający badanie naukowe.

Oświadczam że, zapoznałam się z powyższym tekstem i wyrażam świadomą zgodę na wykonie zabiegu.

.....

.....

Data i podpis wykonującego zabieg

Data i podpis pacjenta

ZAŁĄCZNIK NR 3

ANKIETA AUTORSKA

Celem ankiety jest zebranie opinii na temat efektów nawilżenia i elastyczności skóry twarzy po zabiegu radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją. Poznanie Pań opinii pozwoli opracować wyniki badania naukowego, będącego elementem rozprawy doktorskiej.

1. Typ skóry według klasyfikacji Fitzpatrick'a:

- ☐ 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)

2. Okolica i stopień nasilenia przesuszenia skóry twarzy:

- | | |
|--|-----------|
| ☐ policzki | 1-2-3-4-5 |
| ☐ czoło | 1-2-3-4-5 |
| ☐ powieka dolna | 1-2-3-4-5 |
| ☐ bruzda nosowo - wargowa | 1-2-3-4-5 |
| ☐ „lwia zmarszczka” | 1-2-3-4-5 |
| ☐ „chomiki” | 1-2-3-4-5 |
| ☐ zmarszczki marionetki | 1-2-3-4-5 |
| ☐ inne..... | 1-2-3-4-5 |

3. Przyczyna przesuszenia skóry:

- ☐ wrodzona
- ☐ nabyta
 - ☐ promieniowanie UV
 - ☐ farmakoterapia
 - ☐ zmiany hormonalne (ciąża, menopauza, preparaty antykoncepcyjne)

- ☐ inne zaburzenia endokrynologiczne
- ☐ kosmetyki
- ☐ zmiany zapalne skóry

4. Okres występowania przesuszenia skóry:

- ☐ od urodzenia
- ☐ od.....miesiący/lat

5. Przechodzenie przez proces menopauzy:

- ☐ nie
- ☐ w trakcie – stosowanie środków nefarmakologicznych
- ☐ w trakcie – stosowanie HTZ
- ☐ po przejściu przez menopauzę

6. Doświadczenie wpływu czynników fizykochemicznych:

- ☐ oparzenia słoneczne
- ☐ odmrożenia
- ☐ oparzenia kwasami/ ługami
- ☐ wpływ leczenia hormonalnego/ farmakologicznego
- ☐ inne.....

7. Narażenie w pracy czynnikami szkodliwymi dla skóry:

- ☐ niska temperatura
- ☐ wysoka temperatura
- ☐ klimatyzacja
- ☐ narażenie na promieniowanie UV
- ☐ narażenie na światło z lamp i komputerów

8. Stosowanie ochrony przed:

- ☐ promieniowaniem słonecznym – kremy z filtrem UV
- ☐ chłodem – kremy natłuszczające
- ☐ inne.....
- ☐ nie

9. Sposób radzenia sobie z problemem przesuszonej skóry:

- ☐ brak podejmowania działania
- ☐ sposoby domowe/ samodzielne szukanie rozwiązania problemu
- ☐ konsultacje z lekarzem rodzinnym
- ☐ konsultacje z lekarzem dermatologiem
- ☐ konsultacje z kosmologiem
- ☐ inne

10. Subiektywna ocena zmiany parametrów skóry po radiofrekwencji monopolarnej z elektroporacją:

- | | |
|--|--|
| ☐ uelastycznienie | brak zmiany 0-1-2-3-4-5-największy efekt |
| ☐ nawilżenie | brak zmiany 0-1-2-3-4-5-największy efekt |
| ☐ jędrność | brak zmiany 0-1-2-3-4-5-największy efekt |
| ☐ świetlistość | brak zmiany 0-1-2-3-4-5-największy efekt |
| ☐ inne | brak zmiany 0-1-2-3-4-5-największy efekt |

11. Okres, po jakim zauważono efekty terapii:

- ☐ bezpośrednio po zabiegu
- ☐ po 2 tygodniach od zabiegu
- ☐ po miesiącu od zabiegu

- ☐ po kilku miesiącach stosowania, ile ?
- ☐ nie było zauważalnych efektów

12. Okolice twarzy w jakich obserwowane były efekty terapii i ocena uzyskanych rezultatów:

- | | |
|---|-----------|
| ☐ policzki | 1-2-3-4-5 |
| ☐ czoło | 1-2-3-4-5 |
| ☐ powieka dolna | 1-2-3-4-5 |
| ☐ bruzda nosowo- wargowa | 1-2-3-4-5 |
| ☐ „lwia zmarszczka” | 1-2-3-4-5 |
| ☐ „chomiki” | 1-2-3-4-5 |
| ☐ zmarszczki marionetki | 1-2-3-4-5 |

13. Wystąpienie podczas lub po zabiegu podrażnienia skóry:

- ☐ brak podrażnień
- ☐ rumień
- ☐ obrzęk
- ☐ wysypka
- ☐ poparzenia
- ☐ inne

Dziękuję za wypełnienie ankiety!

ZAŁĄCZNIK NR 4

KARTA PRZECIWWSKAZAŃ

KARTA KONSULTACYJNA INTRAJECT

DANE OSOBOWE	
Nazwisko i imię	
Data urodzenia	

KONTAKT	
Telefon	
E-mail	

TRYB ŻYCIA	
Aktywny	
Siedzący	

TYP SKÓRY	
Sucha	
Mieszana	
Wrażliwa	
Normalna	
Tłusta	

PROBLEMY / NIEDOSKONAŁOŚCI SKÓRNE			
Trądzik		Przetrzymywanie płynów	Przebarwienia
Błizny potrądzikowe		Powiększone pory	Przedwczesne starzenie
Zmarszczki		Zaskórniki	Słabe/łamliwe włosy
Wiotkość skóry		Łojotok	Wypadanie włosów
Odwodnienie		Cysty	Łojotok skóry głowy
Rozszerzone naczynia		Krosty	

PRZECIWWSKAZANIA UNIEMOŻLIWIAJĄCE LUB CZASOWO OGRANICZAJĄCE WYKONANIE ZABIEGU			
Hemofilia		Rozrusznik / niewydolność serca	Osteoporoza
Choroba psychiczna		Operacje plastyczne (min. 1 rok)	Rak - do 5 lat po terapii
Kurcze, upośledzenie ruchowe		Zakrzepica, zapalenie żył, nadciśnienie, niedociśnienie	Padaczka
RZS		Ciąża i laktacja	Astma
Nieidiagnozowany ból		Osoby pod wpływem alkoholu i narkotyków	Ostra cukrzyca

NIEDOSKONAŁOŚCI/SCHOROZENIA - DO DECYZJI TERAPEUTY LUB DO KONTROLI LEKARSKIEJ PRZED ZABIEGIEM			
Zapalenie wątroby		Choroba zakaźna lub infekcyjna	
Miejscowa opuchlizna, obrzęk		Otarcia, skaleczenia (przerwana ciągłość naskórka)	
Biegunka i wymioty		Utrata czucia (test dotykowy)	
Hipernadwrażliwość skórna		Poparzenie słoneczne	
Silnie popękane naczynia		Metalowe implanty w obszarze zabiegowym	
Botox (min. 1 tydz.) i wypełniacze (min. 1 mies.)		Niedawne złamania (min. 3 m-ce)	
Gorączka		Nierozpoznane guzy i zgrubienia	
Zasinienia			

TEST SKÓRY				
Poziom nawilżenia	Doskonały	Dobry	Dostateczny	Słaby
Napięcie mięśni	Doskonałe	Dobre	Dostateczne	Słabe
Elastyczność skóry	Doskonała	Dobra	Dostateczna	Słaba
Wrażliwość skóry	Normalna	Wrażliwa	Nadwrażliwa	
Zdolności do gojenia się skóry	Doskonałe	Dobre	Dostateczne	Słabe
Krążenie	Dobre	Normalne	Słabe	
Pory skóry	Czyste	Rozszerzone	Zaskórniki	Cysty

OŚWIADCZENIE ŚWIADOMEJ ZGODY NA ZABIEG INTRAJECT

Oświadczam, że zostałam/tem poinformowana/ny o sposobie wykonania zabiegu i jego efektach, a moje wszelkie wątpliwości zostały rozwiane, dzięki pełnej i fachowej odpowiedzi na wszystkie dręczące mnie pytania.

Skuteczność zabiegu zależy od osoby, na której jest on wykonywany. Rozumiem, że niezbędne jest przedstawienie przeze mnie przed zabiegiem pełnej informacji o przebytych chorobach, oraz że osoba obsługująca nie bierze odpowiedzialności w przypadku zajścia jakichkolwiek zmian w stanie mojego zdrowia w trakcie mojej kuracji.

Rozumiem, że poddając się zabiegowi istnieje możliwość niekorzystnej reakcji skóry, ale chętnie podejmę to ryzyko. Oto kilka typowych reakcji skóry, nie są to jednak wszystkie możliwe reakcje:

- Krótkotrwałe zaczerwienienie powierzchni zabiegowej, a w przypadku energii plazmowej - strupy/skrzepy do kilku dni po zabiegu;
- Rumień i obrzęk na obszarze zabiegowym, które zwykle ustępują w ciągu 24 godzin po zabiegu;
- Dyskomfort podczas zabiegu oraz wrażliwość skóry na poparzenie oraz uczucie pieczenia, które mogą trwać od kilku godzin do kilku dni po zabiegu;
- Miejscowa reakcja alergiczna na użyty rodzaj urządzenia lub preparaty stosowane przy zabiegu.

Poświadczam, że przeczytałam/tem ze zrozumieniem całe powyższe oświadczenie, oraz że świadomie i dobrowolnie poddaję się zabiegowi.

Niniejszy zabieg nie ma na celu poprawy kondycji zdrowia psychicznego pacjenta.

Data:.....

Podpis:.....

ZAŁĄCZNIK NR 5

PROTOKÓŁ POSTĘPOWANIA PODCZAS BADANIA

1. Sprawdzenie technicznego stanu aparatury badawczej, przygotowanie stanowiska pracy.
2. Przygotowanie niezbędnych akcesoriów oraz preparatów.
3. Przeprowadzenie wywiadu, wypełnienie karty badania.
4. Wyrównanie temperatury organizmu (odczekanie ok .1 godziny) i przygotowanie probanta do badania.
5. Podczas badania należy zwrócić uwagę na bezpieczeństwo pacjenta oraz osoby wykonującej zabieg.
6. Telefon komórkowy powinien znajdować się w odległości ponad 2m od urządzenia.
7. Ściągnięcie biżuterii (w tym aparatu słuchowego, szkieł kontaktowych) przez probanta i osobę wykonującą.
8. Stwierdzenie braku przeciwwskazań oraz utrudnień do badania.
9. Wypełnienie i podpisanie formularza świadomej zgody na udział w badaniu.
10. Demakijaż obszaru zabiegowego za pomocą płatką zwilżonego 0,9% NaCl., resztki kosmetyków mogą zafałszować badanie.
11. Diagnoza obszaru zabiegowego za pomocą lampy Lupa.
12. Wykonanie fotografii przed zabiegiem. Zachowanie odpowiedniego światła i niezmiennego kąta ułożenia głowy – wzorzec.
13. Rozprowadzenie odpowiedniej ilości żelu sprzęgającego (bez kwasu hialuronowego) o temp. 20 °C.
14. Poinformowanie probanta o odczuciach podczas zabiegu.
15. Wykonanie procedury mycia rąk żelem antybakteryjnym.
16. Nałożenie rękawiczek jednorazowych (izolacja).
17. Osoba przeprowadzająca zabieg nie powinna owijać kabla głowicy wokół ręki.
18. Wybranie odpowiedniej głowicy zabiegowej i założenie jednorazowej elektrody biernej.
19. Rozpoczęcie dawkowania i wykonywanie płynnych ruchów bez odrywania (wyładowanie elektrostatyczne) i zatrzymywania głowicy (grozi to kumulacją energii i ryzykiem poparzenia).

20. Dawkowanie: lifting okolic oka - radiofrekwencja 1-45 W, elektroporacja 1-5 W; twarzy - radiofrekwencja 1-80 W, elektroporacja 1-10W.
21. Czas zabiegu: twarz 30 - 40 min.
22. Przy odczuciu gorąca należy przerwać zabieg lub zmniejszyć intensywność emisji energii.
23. Na koniec ustawiamy intensywność energii w pozycji „0” i odrywamy elektrodę.
24. Kontrolujemy odczyn skóry w obszarze zabiegowym.
25. Wykonujemy fotografie po zabiegu, kontrolując kąt ułożenia głowy i światło.
26. Po zakończeniu dawkowania często pojawia się tymczasowy rumień - normalny odczyn pozabiegowy.
27. Optymalną efektywność kliniczną osiągamy w ciągu 12 tygodni.
28. Przekazanie zaleceń po badaniu: zaleca się picie co najmniej 2l wody dziennie, stosowanie minimum 30 SPF, niewykonywanie jakichkolwiek innych zabiegów z zakresu kosmetologii i medycyny estetycznej, brak masażu i elektrostymulacji.

ZAŁĄCZNIK NR 6

Zgoda na przetwarzanie danych osobowych wraz z wykonaniem obowiązku informacyjnego w zakresie RODO

- I. Zgadzam się na przetwarzanie moich danych osobowych przez doktorantkę - Karolinę Marcinkowską w celu wykonania umowy o przeprowadzenie zabiegów na aparaturze medycznej Intraject firmy Biotec Italia, wykonywanych przez Karolinę Marcinkowską.
- I. Podanie danych jest dobrowolne, jednakże ich podanie jest warunkiem skorzystania z zabiegów aparaturowych. Podstawą przetwarzania danych jest moja zgoda.

Przyjmuję do wiadomości, iż

Mam prawo wycofania zgody w dowolnym momencie. Mam prawo żądania przeniesienia danych. Dane osobowe będą przetwarzane do ew. odwołania zgody, a po takim odwołaniu, przez okres przedawnienia roszczeń przysługujących Karolinie Marcinkowskiej danych i w stosunku do niej.

- I. Mam prawo żądania od Karoliny Marcinkowskiej dostępu do moich danych osobowych, ich sprostowania, usunięcia lub ograniczenia przetwarzania, a także prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.

.....
Data i czytelny podpis

ZAŁĄCZNIK NR 7

.....
Miejscowość, data

OŚWIADCZENIE
o wyrażeniu zgody na publikację wizerunku

Ja, niżej podpisany/podpisana

....., jako probantka,
wyrażam zgodę na wykonanie zdjęć „przed” i „po” zabiegu, w celu
dokumentacji badań klinicznych do rozprawy doktorskiej.

Podpis :

.....