

Влияние ультрафиолета на уровень постоянного электрического потенциала кожи человека

А. О. Лазарев

ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем РАН
123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 76а

Цель. Исследование влияния загара на уровень постоянного электрического потенциала кожи для разработки гипотезы об участии меланоцитов в формировании электрической активности кожи.

Материал и методы. В обследовании участвовали 11 мужчин и 11 женщин, находившихся на летнем отдыхе. Изучали связь между уровнем постоянного электрического потенциала кожи и коэффициентом отражения. Постоянные электрические потенциалы регистрировали в виде разности электрических потенциалов между двумя областями кожи посредством Orion 261S pH meter и жидкостных Ag/AgCl электродов той же фирмы. Для измерения коэффициента отражения использовали спектрорадиометр LI-1800 фирмы LI-COR, входящий в комплектацию интегрирующей сферы 1800-12, покрытой сульфатом бария. Диаметр отверстия 1,45 см. Коэффициент отражения измеряли в диапазоне длин волн 375—800 нм с шагом сканирования 1 нм.

Результаты. Между величинами разности электрических потенциалов и разности коэффициентов отражения загорелой и не подвергавшейся действию солнца области кожи в диапазоне длин волн 620—720 нм существует математическая зависимость, которая может быть аппроксимирована линейным уравнением. Коэффициент корреляции Спирмена между этими показателями равен $-0,43$ ($p = 0,045$), между величиной разности электрических потенциалов и величиной коэффициента отражения загорелой кожи $r = -0,52$ ($p = 0,01$), между величиной разности электрических потенциалов и величиной коэффициента отражения области кожи, не подвергавшейся действию солнца, $r = -0,28$ ($p = 0,2$).

На основании результатов проведенного исследования и анализа данных литературы следует, что между уровнем постоянных электрических потенциалов кожи и количеством меланосом, наполненных меланином, существует положительная корреляция.

Заключение. Предполагается, что меланоциты участвуют в формировании электрической активности кожи посредством меланосом, наполненных меланином. При этом вклад меланоцитов в электрическую активность кожи не является определяющим.

Ключевые слова: **кожа, постоянные электрические потенциалы, разность электрических потенциалов, коэффициент отражения, меланоциты.**

Ultraviolet influence on the level of omnipresent electrical potential of human skin

A. O. Lazarev

State research center of Russian Federation — Institute of biomedical problems of RAS
Khoroshevskoe highway, 76A, Moscow, 123007, Russia

Aim of the study. investigation of the suntan on the level of omnipresent electrical potential of skin in frames of development of the hypothesis about the melanocyte participation in skin electrical activity formation.

Material and methods. 11 men and 11 women on summer holiday took part in investigation.

The relationship between the levels of skin omnipresent electrical potential and the reflection factor were investigated. The omnipresent electrical potentials were registered as the potential differences between the two areas on skin using the Orion 261S pH meter and the liquid Ag/AgCl electrodes of the same company. The reflecting factor was estimated with the help of the spectroradiometer LI-1800 (“LI-COR”) using the included integrational sphere 1800-12 coated with barium sulfate. Hole size was 1,45 cm. The reflection factor was estimated at the wave band 375—800 nanometers with the scanning pitch 1 nm.

Main results. There is a mathematical relation between the magnitudes of potential differences and the reflection factors of the areas of sunburnt skin and the areas of the skin not affected with sun at wave light 620—729 nm. The relationship could be approximated in linear equation. Spearman correlation factor between these two parameters was $-0,43$ ($p = 0,045$), between the differences in levels of skin omnipresent electrical potential and the reflection factors of the sunburnt skin was $r = -0,52$ ($p = 0,01$), between the differences of the electrical potentials of sunburnt skin and the skin not affected with sun was $r = -0,28$ ($p = 0,2$).

The presented results of investigation and the data from literature allow to conclude that there is a positive correlation between the level of omnipresent electrical potential of skin and the quantity of melanosomes filled with melanin.

Conclusion. It is suggested that melanocytes take part in formation of the skin electrical activity via melanosomes filled with melanin. At the same time the melanocyte contribution in skin electrical activity is not assessed.

Key words: **skin, omnipresent electrical potentials, difference of omnipresent electrical potentials, reflection factor, melanocytes.**

Corresponding author: abtava@mail.ru. Vestnik Dermatologii i Venerologii 2017; 1: 31—37.

■ Кожа играет большую роль в процессах жизнедеятельности млекопитающих. Уровень постоянного электрического потенциала (ПЭП) кожи — это проявление ее функциональной активности, результат физико-химических процессов, протекающих в коже. Опубликовано много работ, посвященных изучению природы этого показателя и использованию его в диагностических целях. Однако в связи с отсутствием общепризнанной точки зрения на формирование уровня ПЭП кожи интерпретации результатов исследований разных авторов, использующих одинаковые по сути методы регистрации, существенно различаются.

Существует несколько гипотез об источниках электрической активности кожи. Общим для них является предположение о том, что в формировании электрической активности кожи участвуют потовые железы и клетки эпителия [1]. Потовые железы хорошо изучены. Известно, что они находятся под контролем вегетативной нервной системы при активном участии гипоталамуса. Именно потовые железы играют главную роль в кожно-гальваническом рефлексе, но их значение для формирования уровня ПЭП кожи, вероятно, несущественно, так как есть данные о том, что ПЭП кожи регистрируется и на коже животных, у которых нет потовых желез [2, 3].

На сегодняшний день нет единого мнения об эпителиальных источниках ПЭП кожи. Непонятно, какие клетки эпителия участвуют в этом процессе и как происходит образование ПЭП кожи.

Согласно гипотезе, развиваемой автором, источником ПЭП кожи является морфологическая структура, состоящая из базального слоя клеток эпителия и базальной мембраны. Один из основных компонентов этой структуры — базальный слой клеток — состоит в основном из кератиноцитов, обладающих выраженной электрической полярностью [4]. Кроме кератиноцитов в базальном слое находятся меланоциты, клетки Лангерганса и клетки Меркеля. В плане формирования электрической активности эпителия определенный интерес представляют меланоциты. Меланоциты находятся между базальными клетками и обладают дендритами, которые проникают в межклеточное пространство прилегающих базальных клеток. Посредством дендритов меланоциты передают кератиноцитам меланосомы, наполненные меланином. Один меланоцит контактирует примерно с 36 кератиноцитами, образуя эпидермальную меланиновую единицу. Между меланоцитами и кератиноцитами существует тесная взаимная связь. Меланоциты посредством меланосом влияют на метаболизм и пролиферацию кератиноцитов, а кератиноциты вырабатывают химические вещества, которые действуют на пролиферацию меланоцитов, состояние дендритов и синтез меланина [5—7]. Существование этой связи позволяет предположить наличие влияния

меланоцитов и на электрическое состояние мембран кератиноцитов, что в итоге отражается на формировании ПЭП кожи.

Под активностью меланоцитов в данном месте кожи понимается количество в этом месте меланосом, наполненных меланином. Согласно данным литературы определение концентрации меланина в коже можно проводить неинвазивно, регистрируя спектр излучения, отраженного от кожи [8—10]. Показано, что наиболее подходящий диапазон длин волн для оптического способа измерения содержания меланина в коже 620—720 нм [11—14].

Цель работы: исследование влияния загара на уровень ПЭП для разработки гипотезы об участии меланоцитов в формировании электрической активности кожи.

Материал и методы

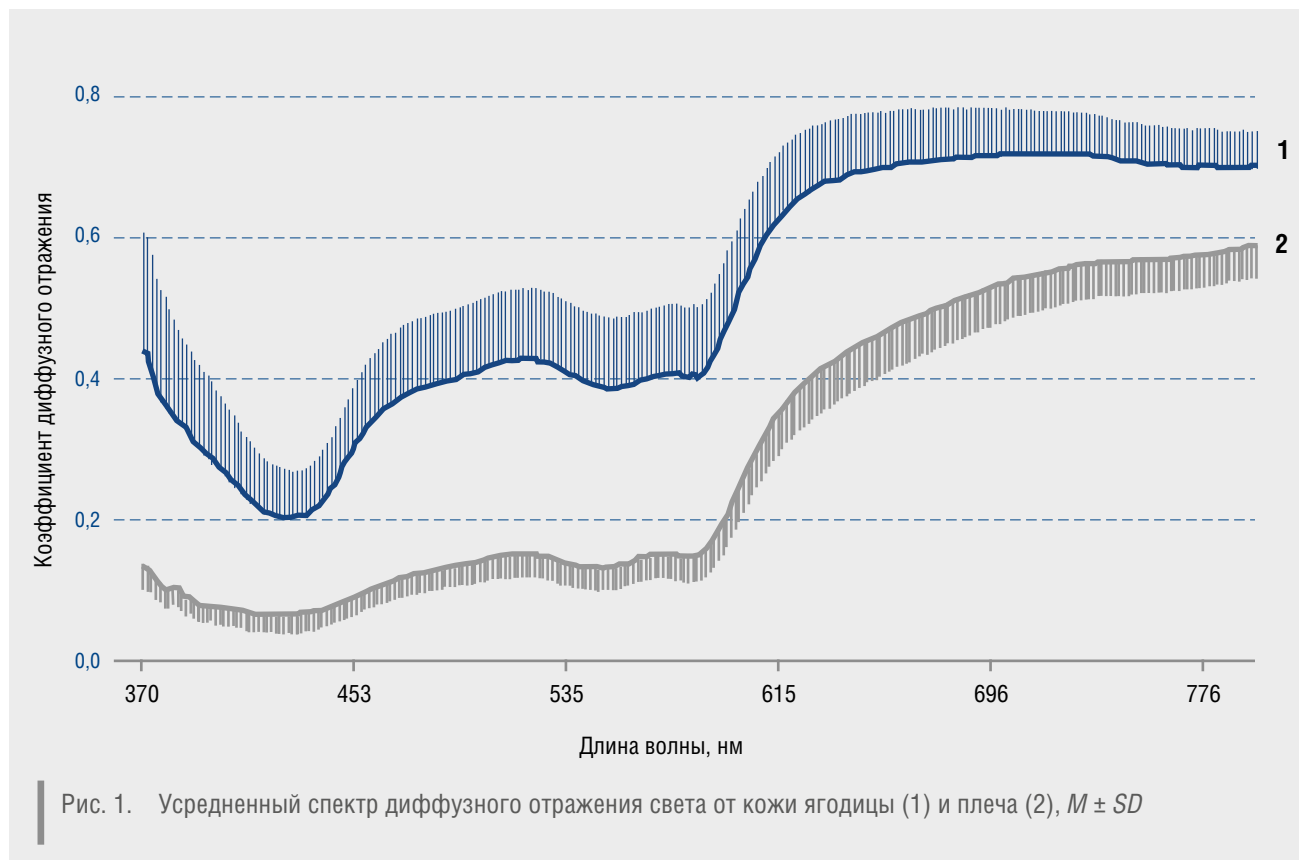
Для измерения спектра отражения кожи применяли спектрометр LI-1800 фирмы LI-COR (США) с входящей в его комплект интегрирующей сферой 1800-12, покрытой сульфатом бария. Диаметр отверстия 1,45 см. Коэффициент отражения измеряли в диапазоне длин волн 375—800 нм с шагом сканирования 1 нм.

ПЭП кожи регистрировали в виде разности электрических потенциалов между двумя областями кожи, используя метод разомкнутой цепи. Применяли Orion 261S pH meter с входным сопротивлением 10^{12} Ом и жидкостные Ag/AgCl электроды той же фирмы.

Контакт электродов с кожей осуществляли через ватный тампон, пропитанный физиологическим раствором. Перед началом измерений подбирали пару электродов так, чтобы разность электродных потенциалов была менее 1 мВ, а дрейф не превышал 1 мВ/ч. Кожу перед обследованием протирали влажной салфеткой без использования спирта. Вначале проводили измерение спектра отражения кожи в двух областях, через 5—10 мин регистрировали уровень ПЭП кожи между двумя исследуемыми областями в течение 10 мин.

Во время обследования испытуемый находился в положении на животе.

Изучение влияния ультрафиолета на уровень ПЭП кожи проводили с участием лиц после двухнедельного отдыха в летний период. Исследованию подвергали плечи и ягодицы. Эти области кожи значительно различаются по физическому состоянию. Кожа плеч у всех обследуемых была загорелая, а в области ягодицы — светлая, без следов загара. Обследованы 22 человека: 11 мужчин и 11 женщин (средний возраст 39 лет). Обследования проводили в помещении с температурой 20—22 °С. Участники были осведомлены о цели исследования, применяемых методах и инструментах. Все дали согласие на участие в исследовании



и разрешение на анонимное использование полученных данных.

Для обработки результатов была использована компьютерная программа Statistica 8.0. Проверку на нормальность распределения полученных данных проводили с использованием *W*-теста Шапиро — Уилка.

Для вычисления коэффициента корреляции применяли непараметрический критерий Спирмена.

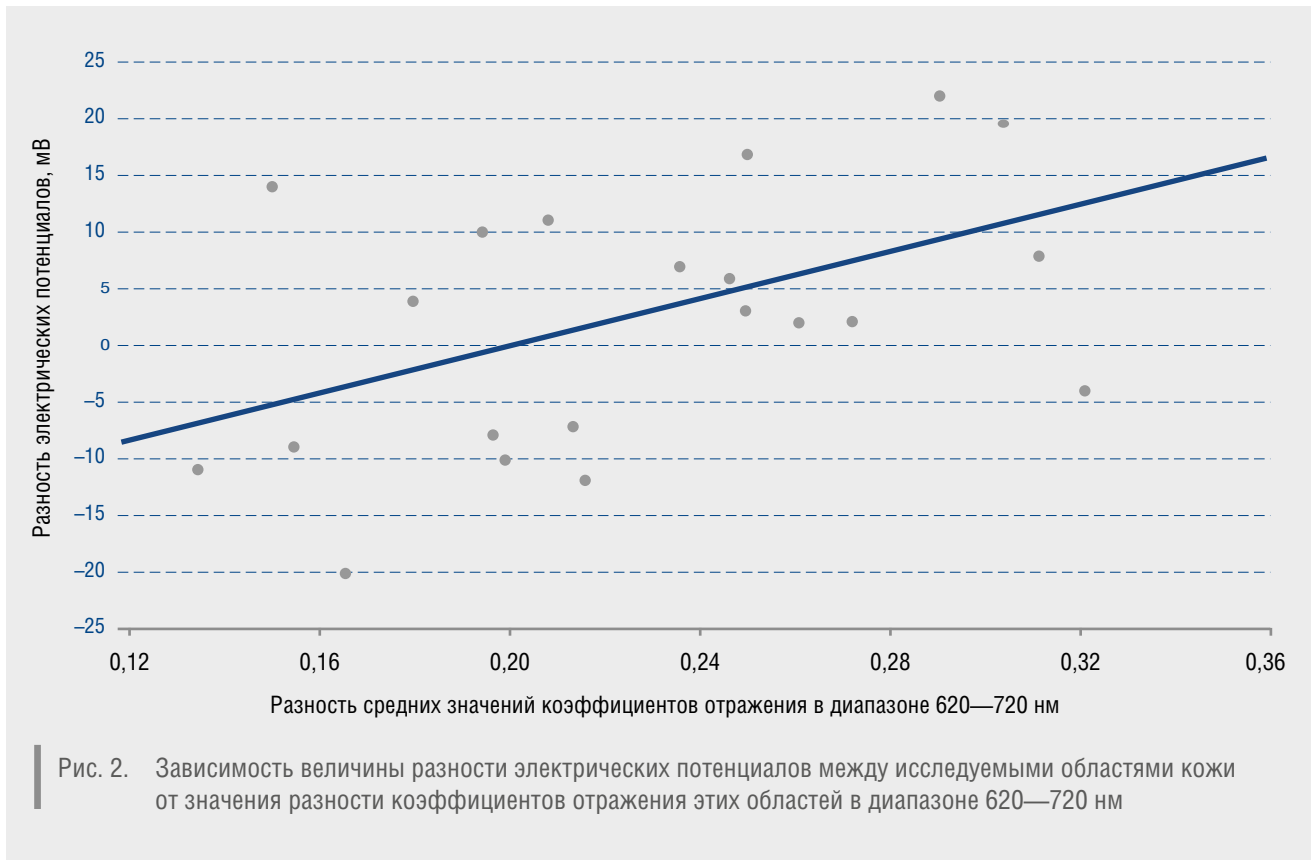
Результаты

В связи с тем что количество меланосом у мужчин и женщин достоверно не различается [15], при анализе результатов исследования мужчины и женщины были объединены в одну группу. На рис. 1 приведены усредненные спектры отражения изучаемых областей кожи в диапазоне волн 375—800 нм. Как видно, спектр отражения имеет сложную форму. Есть участки кривой, где коэффициент отражения изменяется быстро при изменении длины волны падающего света, и есть участки, где его изменения незначительны. Как и следовало ожидать, во всем диапазоне длин волн коэффициент отражения от незагорелой кожи выше, чем от кожи плеча. Это наблюдалось у всех участников исследования. Необходимо отметить, что спектры отражения имеют индивидуальные особенности, которые в большей степени проявляются в ко-

ротковолновой области спектра кожи, не подвергавшейся действию солнца. Это видно на рис. 1 (верхняя кривая) по большей величине дисперсии. На загорелой коже индивидуальные особенности в целом выражены слабее с незначительным увеличением дисперсии в длинноволновой области спектра. Ни у одного из участников исследования не была обнаружена эритема. Отсутствие эритемы на загорелом месте кожи определяли, сравнивая величины отношений коэффициентов отражения кожи на двух длинах волн — 555 и 660 нм для загорелой кожи и области кожи, не подвергавшейся действию солнца [16]. Если различия были менее 10%, считали, что эритемы в загорелом месте кожи нет.

Чтобы исключить возможное влияние потовых желез на результаты измерения ПЭП кожи, обследования проводили в помещении при температуре 20—22 °С. При такой температуре окружающей среды потовые железы неактивны [17].

На рис. 2 графически представлена зависимость между величинами разности электрических потенциалов и разности коэффициентов отражения кожи двух исследуемых областей в диапазоне длин волн 620—720 нм. Использовали усредненное значение коэффициента отражения кожи в этом диапазоне длин волн. При обработке данных установлено, что между



этим показателями существует математическая зависимость, которая может быть аппроксимирована линейным уравнением.

$$y = 21 - 104x,$$

где $y = (\varphi_1 - \varphi_2)$; $x = (r_1 - r_2)$;

φ_1, φ_2 — величина ПЭП первой и второй областей кожи;

r_1, r_2 — коэффициенты отражения двух областей кожи.

Проверка на нормальность распределения полученных данных с использованием *W*-теста Шапиро — Уилка показала, что величины коэффициентов отражения и разностей электрических потенциалов не распределены по нормальному закону. Поэтому для количественной оценки зависимости между разностью электрических потенциалов и разностью коэффициентов отражения был вычислен непараметрический коэффициент корреляции Спирмена — r . Он оказался равным $-0,43$ ($p = 0,045$). Чтобы понять, какая из областей кожи вносит больший вклад в наблюдаемую корреляцию, были вычислены коэффициенты корреляции между величиной разности электрических потенциалов и значениями коэффициентов отражения отдельно для каждой области кожи. Коэффициенты корреляции оказались разными как по величине,

так и по достоверности. Для кожи плеча $r = -0,52$ ($p = 0,01$), для кожи ягодицы $r = -0,28$ ($p = 0,2$).

Обсуждение

Из полученных результатов следует, что существует достоверная отрицательная корреляция средней силы между величиной разности электрических потенциалов и коэффициентом отражения кожи плеча — места активного синтеза меланосом в результате загара. При этом отсутствует корреляция между изучаемыми показателями в области кожи, где образование меланосом не происходит или проходит на низком фоновом уровне. Вероятно, это связано с тем, что если образование меланосом в данной области кожи не происходит, то в ней нет и меланина. В этом случае величина коэффициента отражения данной области кожи будет обусловлена наличием в ней других хромофоров кожи — гемоглобина (оксигемоглобин и дезоксигемоглобин), билирубина и бета-каротина. Как показали результаты проведенных исследований, суммарное влияние этих хромофоров на коэффициент отражения кожи не коррелирует с уровнем ПЭП кожи. Для сравнения коэффициент корреляции был подсчитан для диапазона длин волн 540—580 нм. В этом диапазоне длин присутствуют локальные максимумы поглощения главных хромофоров крови: оксигемоглобина (542 и 578 нм)

и дезоксигемоглобина (554 нм) [14]. Поэтому в этой области длин волн величина коэффициента отражения будет зависеть от концентрации в коже как меланина, так и гемоглобина. Для диапазона волн 540—580 нм коэффициент корреляции между разностью электрических потенциалов и разностью коэффициентов отражения равен 0,02, т. е. корреляция между исследуемыми показателями отсутствует.

Согласно данным литературы существует однозначная обратная зависимость величины коэффициента отражения кожи в диапазоне длин волн 620—720 нм от содержания в ней меланосом. Чем больше коэффициент отражения данного места кожи, тем меньше в нем количество меланосом, наполненных меланином [8—10]. Поэтому различия в величинах коэффициентов отражения двух областей кожи в диапазоне длин волн 620—720 нм являются следствием разного количества меланосом в этих областях эпидермиса.

Количество меланоцитов в исследуемых областях кожи, согласно данным литературы, различается. На 1 мм² кожи плеча находится 1250 ± 99 меланоцитов, а на коже ягодицы — 1900 ± 178 [15]. Кажущееся несоответствие между количеством меланоцитов и величиной коэффициента отражения легко разрешается, если учесть, что в коже плеча идет меланогенез в результате периодического влияния солнца, а в области ягодицы этого процесса нет. Известно, что повторный загар увеличивает активность меланоцитов в 2—3 раза [17, 18]. Таким образом, несмотря на то что в коже плеча количество меланоцитов меньше, чем в коже ягодицы, количество меланосом, наполненных меланином, больше. Об этом свидетельствует более низкий коэффициент отражения кожи плеча.

Необходимо отметить, что обнаруженная математическая корреляция между уровнем ПЭП кожи и количеством меланосом не является доказательством функциональной связи этих показателей. Однако на ее основе можно предсказать поведение одного из параметров в зависимости от состояния другого. Рассмотрим два участка кожи №1 и №2 с одинаковым содержанием меланосом. Тогда согласно работам [12—14] эти области кожи будут иметь одинаковые коэффициенты отражения ($r_1 = r_2$). Согласно полученному уравнению аппроксимации между этими областями будет существовать разность электрических потенциалов, равная 21 мВ. Предположим, что в области №2 начался процесс меланогенеза в результате действия солнца. Тогда количество меланосом, наполненных меланином, в этой области начнет увеличиваться, что приведет к уменьшению ее коэффициента отражения и r_1 станет больше r_2 . В этом случае разность электрических потенциалов между двумя областями, согласно уравнению, начнет уменьшаться. Это будет происходить до тех пор, пока количество меланосом не достигнет уровня, при котором коэффициент отражения данной области кожи уменьшится на 0,2 ($r_1 - r_2 = 0,2$). Как

только это произойдет, разность электрических потенциалов между двумя областями кожи окажется равной нулю. При дальнейшем увеличении количества меланосом в области №2 произойдет изменение электрической поляризации этой области по отношению к области №1 с последующим увеличением разности электрических потенциалов между этими областями.

Следует ли из полученных данных, что меланоциты участвуют в формировании электрической активности кожи? Корреляция — это показатель синхронности изменений двух показателей. Однако наличие достоверной корреляции между величиной разности электрических потенциалов и коэффициентом отражения области кожи, в которой происходит образование меланосом, и отсутствие корреляции этих показателей в месте, где образование меланосом не происходит, свидетельствуют об участии меланосом в формировании ПЭП кожи. К тому же ПЭП и коэффициент отражения относятся к одному субъекту — эпителию кожи, что повышает вероятность наличия функциональной связи между ПЭП и количеством меланосом, наполненных меланином. Кроме того, величина разности электрических потенциалов, равная 21 мВ, которая следует из уравнения аппроксимации, входит в диапазон значений ПЭП кожи, наблюдаемых при измерениях в одинаковых областях тела [1, 2], т. е. в местах с близкими значениями коэффициентов отражения. Теоретически можно предположить существование некоего фактора, который влияет одновременно и на уровень ПЭП кожи, и на активность меланоцитов. Но тогда коэффициент корреляции должен быть значительно выше, так как действие этого фактора происходило бы синхронно на оба показателя.

На основании полученных данных можно предположить, что меланоциты участвуют в формировании уровня ПЭП кожи посредством меланосом, наполненных меланином. Каким образом меланосомы могут оказывать влияние на процесс формирования электрической активности кожи? Меланосомы попадают в кератиноциты в особых пигментных глобулах, которые освобождаются из разных мест дендритов. После того как пигментные глобулы оказались в кератиноците, мембрана, окружающая меланомный кластер, разрушается и меланосомы распределяются в цитозоле вокруг зоны ядра клетки. Основной компонент меланосом — меланин. Меланин может действовать как аморфный полупроводник, вызывая поляризацию клеточной мембраны кератиноцитов, тем самым изменяя ионный транспорт через нее [19]. Кроме меланина в меланосоме находятся и другие биологически активные вещества: молекулы липидов, ферментов и белков, которые тоже могут изменить проницаемость мембраны кератиноцитов. Известно, что меланосомы могут оказывать влияние на энергетический метаболизм клетки путем переключения окислительного катабо-

лизма на анаэробный гликолиз, изменяя внутриклеточные отношения НАД/НАДН и НАДФ/НАДФН или стимулируя пентозофосфатный путь. Меланосому можно рассматривать как регуляторную упаковку, которая доставляется в кератиноцит для изменения его функциональной активности в ответ на внеклеточные сигналы [19].

Из вышеизложенного следует, что меланосомы имеют большой набор инструментов для влияния на метаболизм кератиноцитов. Электрические потенциалы в биологических системах возникают в результате концентрационных градиентов ионов через мембраны клеток. В результате взаимодействия меланосом с кератиноцитами, вероятно, изменяются потоки

ионов через апикальные мембраны кератиноцитов, что отражается на формировании ПЭП кожи.

Заключение

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что между уровнем ПЭП кожи и коэффициентом отражения существует корреляция, если кожа подвергалась действию солнца и загорела. Если влияния солнца на кожу не было, то корреляция между этими показателями отсутствует. Предполагается, что этот эффект обусловлен тем, что меланоциты участвуют в формировании уровня ПЭП кожи посредством меланосом, наполненных меланином. При этом вклад меланосом не является определяющим. ■

Литература

- Boucsein W. *Electrodermal Activity*. 2nd ed. Germany: Springer 2012.
- Barker A. T., Jaffe L. E., Vanable J. W. The glabrous epidermis of cavies contains a powerful battery. *Am J Physiol* 1982; (242): R358–R366.
- Denda M., Ashida Y., Inoue K., Kumazawa N. Skin Surface Electric Potential Induced by Ion-Flux through Epidermal Cell Layers. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2001; (284): 112–117.
- Mostov K. E., Verges M., Altschuler Y. Membrane traffic in polarized epithelial cells. *Current opinion in cell biology* 2000; 12: 483–490.
- Ando H., Niki Y., Ito M. et al. Melanosomes are transferred from melanocytes to keratinocytes through the processes of packaging, release, uptake, and dispersion. *J invest dermatol* 2012; (132): 1222–1229.
- Michael M. S., Marks M. S., Seabra M. C. The melanosome: membrane dynamics in black and white. *Molecular cell biology* 2001; (2): 1–11.
- Simon J. D., Hong L., Peles D. N. Insights into melanosomes and melanin from some interesting spatial and temporal properties. *J Phys Chem* 2008; (112): 13201–13217.
- Kollias N., Baqer A. On the assessment of melanin in human skin in vivo. *Photochemistry und Photobiology* 1986; 43: (1): 49–54.
- Lister T., Wright P. A., Chappell P. H. Optical properties of human skin. *Journal of biomedical optics* 2012; 17: (9): 090901/1–090901/15.
- Nielsen K. P., Zhao L., Jakob J. et al. The optics of human skin: Aspects important for human health. In: ed. by. Bjertness E. *Solar Radiation and Human Health*. Oslo; The Norwegian Academy of Science and Letters 2008; 35–46.
- Rosdahl I., Rosman H. An estimate melanocyte mass in humans. *J invest dermatol* 1983; (81): 278–281.
- Stamatas G. N., Zmudzka B. Z., Kollias N. et al. Non-invasive measurements of skin pigmentation in situ. *Pigment cell res* 2004; (17): 618–626.
- Toyonobu Yamashita T., Kuwahara T., Gonza S., Takahashi M. Non-invasive visualization of melanin and melanocytes by reflectance-mode confocal microscopy. *J invest dermatol* 2005; (124): 235–240.
- Zhang R., Verkrusse W., Choi B. et al. Determination of human skin optical properties from spectrophotometric measurements based on optimization by genetic algorithms. *J biomed optics* 2005; 10: (2): 024030-1–024030-11.
- Rosdahl I., Rosman H. An estimate melanocyte mass in humans. *J invest dermatol* 1983; (81): 278–281.
- Kopola H., Lahti A., Myllyla R., Hannuksela M. Two-channel fiber optic skin erythema meter. *Optical Engineering* 1993; 32: (2): 222–226.
- Tupker R. A., Pinnagoda J. Measurement of transepidermal water loss by semiopen systems. In: Serup J, Jemec G B E, Grove G L, eds. *Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin*, 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press 2006; 383–392.
- Barbara A. G., Frederik B. B., Georg S. Effect of aging and chronic sun exposure on melanocytes in human skin. *J invest dermatol* 1979; 73:141–143.
- Quedo W. C., Szabo G., Influence of age and ultraviolet light on population of "dopa-positive" melanocytes in human skin. *J Anat* 1968; 103: 387–388.
- Michael S., Marks M. S., Seabra M. C. The melanosome membrane dynamics in black and white. *Molecular cell biology* 2001; (2): 1–11.
- Simon J. D., Hong L., Peles D. N. Insights into melanosomes and melanin from some interesting spatial and temporal properties. *J Phys Chem* 2008; (112): 13201–13217.

об авторе:

А. О. Лазарев — к.б.н., научный сотрудник Государственного научного центра Российской Федерации — Института медико-биологических проблем РАН, Москва

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье