

# К вопросу о концентрации гиалуроновой кислоты в препаратах для биоревитализации

## 1 ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день среди различных инъекционных методов из арсенала современного врача-косметолога одно из ведущих мест занимает биоревитализация. По ставшему уже классическим определению биоревитализацию рассматривают как «...метод внутрикожных инъекций немодифицированной гиалуроновой кислоты (гиалуронана), позволяющий достичь восстановления физиологической среды и нормализации обменных процессов в дерме».

Более чем 10-летний опыт применения нативной гиалуроновой кислоты для биоревитализации позволяет определить основные характеристики подобных препаратов. Это особенно важно в современных условиях, когда на рынке инъекционных препаратов для эстетической медицины представлены десятки биоревитализантов, различающихся по концентрации, молекулярной массе, источнику происхождения гиалуроновой кислоты.

Эстетическая медицина предлагает anti-age-программы не только для коррекции имеющихся нарушений, но и для стимуляции и оптимизации собственных возможностей кожи. Безусловно, одним из основных методов решающих эти проблемы, является биоревитализация. Основная цель применения данной методики – пополнение гидратационного резерва тканей и воссоздание в коже благоприятных естественных условий для функционирования клеток, а значит, и для активизации синтеза эндогенной гиалуроновой кислоты и других компонентов межклеточного матрикса дермы.

---

**В. Хабаров**, кандидат химических наук, директор АНО «Научно-исследовательский центр гиалуроновой кислоты», Москва, Россия

Межклеточный матрикс – динамичная система. Его структуры с различной скоростью непрерывно обновляются – разрушаются и одновременно восстанавливаются. Постоянство клеточных структур дермы, как, впрочем, и всего организма, основано на согласованности процессов катаболизма и анаболизма. Наличие совершенной системы взаимосвязей, регуляции и координации этих процессов обеспечивает поддержание внутренних параметров матрикса в пределах нормы. Необходимым условием сохранения стационарного состояния клетки служит материальный и энергетический обмен. И что самое важное – дефицит субстратов или избыток метаболитов, например гиалуроновой кислоты, являются стресс-факторами и могут вызывать нарушение регуляции метаболизма и регенерации клеточных структур дермы. В частности, избыточное количество экзогенной гиалуроновой кислоты может приводить к нежелательным эффектам.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Учитывая вышесказанное, становится понятно, что количество вводимой в кожу гиалуроновой кислоты является чрезвычайно важным параметром при проведении омолаживающих процедур. В связи с этим в НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН под руководством кандидата медицинских наук А.А. Московцева была выполнена работа по изучению влияния концентрации гиалуронана на жизнеспособность фибробластов. Исследования проводились на эндотелиоцитарной клеточной линии человека EA.hy926 и фибробластах крайней плоти человека.

Следует отметить, что фибробласты из различных анатомических областей имеют сходное морфологическое строение. Клетки линии

## К вопросу о концентрации гиалуроновой кислоты в препаратах для биоревитализации

EA.Hy926 воспроизводят основные морфологические, фенотипические и функциональные характеристики, присущие эндотелиальным клеткам макрососудов.

Жизнеспособность клеток оценивали методом исключения витального красителя трипанового синего. Обработка данных проводилась с использованием критерия Краскела–Уоллиса и программного обеспечения Statistica, построение графиков осуществлялось в программной среде Origin Pro 9.0, аппроксимация кривых – с использованием 3-параметрического логарифмического уравнения и 4-параметрического логистического уравнения сигмоидальной зависимости доза–ответ.

### 3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментов представлены на рисунке 1.

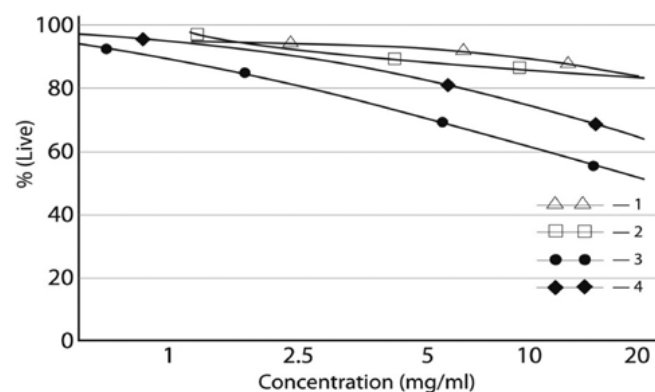


Рис. 1. Метаболическая активность эндотелиоцитов EA.hy926 (кривые 1 и 2) и фибробластов крайней плоти (кривые 3 и 4) при 24- и 48-часовом (соответственно) действии препаратов гиалуроновой кислоты с различной начальной концентрацией

Результаты, представленные на рисунке 1, показывают, что повышенная концентрация гиалуронана в культуральной жидкости (выше значения 0,5 масс %, или 5 мг/мл) приводит к дозозависимому снижению выживаемости

фибробластов. При концентрации гиалуроновой кислоты 2 масс % происходит гибель 20–25% клеток.

Главная функция фибробластов дермы – участие в метаболизме межклеточного вещества. Состояние и функция основных внеклеточных компонентов соединительной ткани – коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон и межклеточного матрикса – зависят от функциональной активности фибробластов. Совершенно очевидно, что снижение метаболической активности клеточных структур может приводить к рассогласованию процессов катаболизма и анаболизма. Поэтому необходимо избегать нежелательной передозировки препарата, а для этого нужно точно знать, какое количество биоревитализанта будет безопасно для пациента при инъекционном введении препарата.

Оценим, сколько гиалуронана может быть введено пациенту однократно. Если зона инъекции имеет приблизительные размеры 20x20 см (400 см<sup>2</sup>), то при средней толщине дермы 4 мм объем дермального слоя составит 160 см<sup>3</sup>. Физиологическая концентрация гиалуроновой кислоты в дерме составляет 0,05 масс % (0,5 мг/мл) [1]. Таким образом, физиологическое количество гиалуронана в зоне предполагаемой инъекции составляет 160 см<sup>2</sup> x 0,5 мг/см<sup>3</sup> = 80 мг.

Многочисленные исследования [1, 2] показывают, что возрастное уменьшение содержания эндогенной гиалуроновой кислоты в коже пациентов становится заметным только после 60-летнего возраста, а основные колебания ее количества связаны с сезонным фактором, (в частности, уменьшение ее содержания в коже в летний период происходит главным образом под воздействием УФ-облучения). Как правило, эти колебания составляют 15–20% от ее физиологического содержания.

Отсюда следует, что максимальный биоревитализирующий эффект может быть достигнут при введении 2–2,5 мл 0,5%-ного или 1–1,5 мл 1%-ного гиалуронанового гидрогеля. Необходимо отметить, что 1%-ный (10 мг/мл) раствор гиалуроновой кислоты, по нашему мнению, является предельным по концентрации для биоревитализанта. Остановимся на этом подробнее.

Хорошо известно свойство макромолекул гиалуронана даже при сравнительно небольших концентрациях (порядка 0,05–0,1 масс %) обра-

зовываться в водных растворах вязкие гидрогелевые структуры. Молекула гиалуроновой кислоты с молекулярной массой 1–1,5 млн Да способна сорбировать как минимум в 100 раз больше воды, чем весит сама. Таким образом, в 1%-ном растворе гиалуронана вся вода находится в связанном состоянии. Его макромолекулы в таком растворе обнаруживают значительную вариабельность конформации, но, как правило, приобретают структуру среднестатистического полужесткого клубка. Формируя более или менее жесткий клубок, молекулы полисахарида захватывают огромное количество воды и образуют весьма крупные домены. Как показали гидродинамические исследования [3–5], реальная плотность цепей гиалуронана внутри молекулярного домена невысока (около 0,1–0,5 масс %), но зависит от его молекулярной массы. При введении такого геля в кожу двухвалентные ионы кальция и магния из межклеточного матрикса дермы связываются с молекулами привнесенной гиалуроновой кислоты и формируют поперечные ионные шивки полимерных цепей. С увеличением плотности поперечных шивок гель приобретает труднорастворимую объемную структуру. При этом уменьшается величина его пор, что затрудняет проницаемость такой структуры для ферментов расщепления (гиалуронидаз). В результате замедляются и распределение геля в межклеточном пространстве дермы, и катаболизм гиалуроновой кислоты.

С ростом концентрации в геле гиалуроновой кислоты, особенно при превышении значения 1 масс %, образуется плотная межмолекулярная сетка, что приводит к значительному росту его вязкости. В концентрированных гидрогелях гиалуроновая кислота уже не может существовать как «независимое тело» и приобретать различные пространственные структуры. Возможны лишь такие конформации, в которых каждое дисахаридное звено каждой макромолекулы занимает в пространстве лишь то место, которое не занято соседними макромолекулами. Поэтому в концентрированных растворах молекулярные клубки значительно переплетены между собой и местами образуют области с пониженным содержанием воды. В этих областях гиалуроновая кислота как бы недорастворена и представляет собой некоторое подобие сжатой губки. При попадании таких гидрогелей в водную среду, а дерма на 70–80% состоит из воды, клубки гиалуроновой кислоты расправляются, принимая наиболее энергетически выгод-

ную конформацию, и начинают «тянуть на себя» воду из межклеточного (интерстициального) пространства дермы. (То же самое происходит, когда сжатая губка освобождается от деформирующих напряжений.)

Таким образом, высококонцентрированные гели гиалуронана при внутрикожных инъекциях приводят, как ни парадоксально это может показаться, не к росту, а напротив, к снижению уровня гидратации дермы. Это подтверждается результатами клинических испытаний, проведенных в 2008 году в Институте пластической хирургии и косметологии МЗ РФ под руководством В.Г. Змазовой [6].

Для испытаний был взят биоревитализант с концентрацией гиалуроновой кислоты 1,4% и молекулярной массой 1,6 млн Да. Аппаратные измерения качественных характеристик кожи проводили в динамике – до применения исследуемого препарата и через 2 и 4 недели после его введения. У всех пациентов влажность кожи в течение первых 2 недель после инъекции уменьшилась (на 8–14%). Через 2 недели после инъекции также у всех испытуемых влажность кожи стала постепенно возрастать, и к концу 4-ой недели ее рост составил 12–15% от начального уровня. Эти данные свидетельствуют о том, что как только количество экзогенной (введенной) гиалуроновой кислоты в результате биодеградации уменьшалось до обычных физиологических значений, препарат начинал оказывать свое ревитализирующее действие.

Подобная дозозависимость может приводить к ряду негативных последствий. Общеизвестное изречение Авиценны «Все есть лекарство и все есть яд» как раз и означает, что физиологическое действие различных химических соединений и физических факторов имеет, как правило, дозозависимый характер.

Перераспределение интерстициальной воды межклеточного матрикса при введении значительных количеств гиалуроновой кислоты, безусловно, является стресс-фактором для дермы. Вместо того чтобы «...достигать эффекта оживления кожи и повышать ее адаптационные возможности благодаря воссозданию качественного межклеточного матрикса и повышению пролиферативной активности фибробластов в генетически запрограммированных пределах», как это пишут в статьях по биоревитализации, инъекции больших количеств гиалуроновых препаратов, напротив, приводят к дестабилизации тканевого и клеточного гомеостаза. Потеря

## К вопросу о концентрации гиалуроновой кислоты в препаратах для биоревитализации

► влаги фибробластами и другими структурными элементами дермы приводит к изменению pH, ионного состава и ионной силы межклеточной среды, что может нарушать нормальное функционирование и активность матричных белков вследствие изменения их структуры или частичной их денатурации. На поверхность белковых агрегатов выходят гидрофобные аминокислоты – триптофан, тирозин, фенилаланин, которые в трехмерной структуре белков обычно расположены внутри макромолекулы. Эти аминокислоты активно поглощают УФ-излучение с длиной волны 280 нм, и белки становятся более чувствительными к данной части спектра. Как результат возникает нестабильная конформация белков, приводящая к их агрегации и формированию отложений (амилоидов).

Кроме того, в результате возбуждаемых УФ-излучением процессов переноса энергии гидрофобные аминокислоты могут участвовать в образовании синглетного кислорода – активной формы кислорода, участвующей в процессах окислительного стресса. Синглетный кислород, являясь предшественником гидроксильного радикала, способствует появлению межмолекулярных сшивок в белках межклеточного матрикса дермы. Это крайне нежелательный процесс, приводящий к ухудшению физико-химических свойств коллагена, снижению его эластичности и способности к набуханию, развитию резистентности к коллагеназе и вероятности формирования коллагеноза.

### 4 ВЫВОДЫ

Данные, приведенные в настоящей статье, по нашему мнению, убедительно указывают на важность учета при проведении эстетических процедур такого параметра, как концентрация гиалуронана в препаратах для биоревитализации. На практике определить, произошла ли передозировка биоревитализанта, можно по длительности существования папул после выполнения инъекций. Папулы в точках инъекирования, которые не рассасываются в течение суток, прямо указывают на избыточное

количество введенной гиалуроновой кислоты.

Кожа человека – орган, который первым принимает на себя действие множества внешних негативных факторов. Она обладает высоким адаптивным и регенеративным потенциалом. Поэтому одноразовое превышение вводимой дозы гиалуронана, конечно, не окажет значительного пагубного воздействия. Но нельзя забывать, что курсы биоревитализации включают, как правило, 3–5 инъекционных процедур и проводятся с периодичностью 2–3 раза в год. Такие «омолаживающие» инъекции биоревитализанта с превышением допустимой вводимой дозы гиалуроновой кислоты способны в течение нескольких лет применения значительно ухудшить состояние кожи пациента. Наша задача – обратить внимание врачей-косметологов, да и самих пациентов на возможные последствия таких процедур. Необходимо помнить, что наличие долго не рассасывающихся папул после введения биоревитализанта – не просто косметический недостаток, а серьезная причина отказаться от использования такого препарата.

В свете затронутой темы может возникнуть вполне закономерный вопрос – возможна ли подобная ситуация с филерами на основе гиалуроновой кислоты, поскольку концентрация полисахарида в них составляет 2% и более?. Мы считаем, что при применении филеров эти проблемы маловероятны, т.к. сорбирующая способность поперечно-сшитой гиалуроновой кислоты в разы меньше, чем немодифицированной.

---

### Литература

1. kuo JW. *Practical aspects of hyaluronan based medical products*. – NY: CRC Press Taylor, 2005.
2. Хабаров ВН, Бойков ПЯ, Селянин МА. *Гиалуроновая кислота. Получение, свойства, применение в биологии и медицине*. – М.: Практическая медицина, 2012. С. 224.
3. Atkins ED, Sheehan JK. *Hyaluronates: Relation between Molecular Conformations*. *Science*, 1973;179(4073):562–564.
4. Dea IC, Moorhouse MR. *Hyaluronic Acid: A Novel, Double Helical Molecule*. *Science*, 1973;179(4073):560–562.
5. Cleland RL, Wang JL. *Ionic polysaccharides. III. Dilute solution properties of hyaluronic acid fractions*. *Biopolymers*, 1970;9(7):799–810.
6. Хабаров ВН, Михайлова НП. *Гиалуроновая кислота. Применение в косметологии и медицине*. – LAMBERT Acad Publ, 2012:155.