

HIALURONSKA KISLINA – NARAVNA UČINKOVINA ZA VLAŽENJE IN ZAVIRANJE ZNAKOV STARANJA KOŽE

HYALURONIC ACID – NATURAL MOISTURIZING AND ANTI-AGEING INGREDIENT

AVTOR / AUTHOR:

Klara Kravos

prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za Farmacijo,
UN Kozmetologija, Aškerčeva 7, Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: kravos.klara@gmail.com

1 UVOD

Koža je največji človeški organ, ki preko različnih funkcij komunicira z okoljem. Koža je celotno življenje izposta-

POVZETEK

Hialuronska kislina, ki jo zasledimo tudi pod imenom hialuronan, je naravna molekula, ki je fiziološko prisotna po celotnem telesu, tudi v koži. Gre za polimerno molekulo, ki jo čedalje več uporabljamo v negovalnih kozmetičnih in farmacevtskih izdelkih kot kozmetično aktivno sestavino. Ima najrazličnejše vloge, v članku se bomo osredotočili na vlažilni učinek in posledično upočasnjevanje oziroma prikrivanje znakov staranja.

KLJUČNE BESEDE:

hialuronska kislina, vlaženje, izdelki za zaviranje staranja

ABSTRACT

Hyaluronic acid, also known as hyaluronan, is a naturally occurring molecule, that is physiologically present in the entire body, including the skin. It is a polymeric molecule, which is increasingly used in skin-care cosmetic products and pharmaceutical care products as an active ingredient. Hyaluronic acid has many different roles in skin care products, the article is focused on its moisturizing effect and slowing down or camouflaging the signs of aging.

KLJUČNE BESEDE:

hyaluronic acid, hydration, anti-ageing products

vljena različnim zunanjim dejavnikom (ekstrinzično staranje), kot so ultravijolično sevanje, izpušni plini, spremembe temperature okolja, in notranjim dejavnikom (intrinzično staranje), kot so hormonske spremembe, obrazna mimika, izguba vode in zmanjšana sinteza različnih bioloških molekul. Zaradi omenjenih dejavnikov se njen videz in funkcionalnost s časom spreminjata, koža se postopno stara (1). V koži se odvija mnogo procesov, ki skrbijo, da kljub naštetim dejavnikom vsi fiziološki procesi normalno potekajo, izpostavili bi predvsem vezavo vode in s tem ustrezno navlaženost kože, ki je pomembna za to, da je koža napeta in gladka. Ena izmed pomembnejših molekul, ki je vpletena v te procese, je hialuronska kislina (HA), ki je fiziološko prisotna molekula po celotnem telesu. Na znake staranja lahko vplivamo tudi s kozmetičnimi ali dermatološkimi izdelki, ki vsebujejo hialuronsko kislino, pridobljeno iz različnih virov (2).

2 KEMIJSKA STRUKTURA HIALURONSKE KISLINE

Odkritje hialuronske kisline sega v leto 1934, ko sta Karl Mayer in njegov sodelavec John Palmer iz steklovine očesa izolirala do takrat nepoznano snov in jo poimenovala hialuronska kislina. Ime izvira iz uronske kisline in besede *hyalos*, ki je grškega izvora in pomeni steklo. Kemijsko zgradbo hialuronske kisline so razvozlali 20 let po izolaciji. Gre za polimerno anionsko glikozaminoglikansko molekulo, sestavljeno iz ponavljajočih se disaharidnih enot, sestavljenih iz D-glukuronske kisline in *N*-acetilglukozamina, ki so med seboj povezane z alternirajočimi glikozidnimi vezmi β -1,4 in β -1,3 (3). Sekundarno in terciarno strukturo HA stabilizirajo vodikove vezi in hidrofobne interakcije, supramolekularno strukturo pa sestavljajo posamezne vzporedno urejene molekule HA, ki tvorijo tubularne ali ploščate strukture. Prostorska urejenost sladkorjev, ki sestavljajo HA, je podobna glukozi. Manjše skupine, na primer vodikovi ioni, so na sterično manj ugodnih aksialnih položajih. Večje skupine, na primer hidroksilne in ostanki karboksilnih skupin, pa so na sterično ugodnejših ekvatorialnih položajih, molekuli HA pa s tem dajejo polaren značaj. Tako organizirana struktura omogoča HA tudi dobro sterično in energijsko stabilnost. Polarna supramolekularna struktura HA torej predstavlja kompleksno organizirano mrežo, ki omogoča, da se v molekulo HA vključijo tudi do 1000-krat večje količine vode, kot je masa molekule HA. Zaradi tega HA pripisujemo dobre hidratacijske lastnosti, tako v kozmetičnih izdelkih kot v telesu samem (2).

Normalno se HA v telesu pojavlja v obliki linearne molekule, katere molekulska masa lahko znaša tudi več milijonov Daltonov (Da) – ena disaharidna enota predstavlja približno 400 Da, disaharidnih enot pa lahko molekula HA vsebuje več kot 10.000 (2).

3 HIALURONSKA KISLINA V KOŽI

Hialuronska kislina ima v telesu mnogo pomembnih bioloških funkcij, ki so odvisne predvsem od molekulske mase HA. V živih organizmih poteka sinteza z encimi hialuronan-sintazami. Ti encimi katalizirajo sintezo z izmeničnim do-

dajanjem D-glukuronske kisline in *N*-acetilglukozamina na nastajajočo verigo. Od količine disaharidnih enot, ki jih vsebuje končna molekula HA, je odvisna njena končna molekulska masa (2). HA z veliko molekulsko maso, ki znaša več kot 5×10^5 Da deluje antiangiogeno in imunosupresivno ter zapolnjuje prostor med celicami. HA z molekulsko maso med 2×10^4 in 10^5 Da je vpletena v ovulacijo, embriogenezo in je pomembna pri celjenju ran. HA z majhno molekulsko maso (6×10^3 do 2×10^4 Da) pa deluje vnetno, imunostimulirno in angiogeno.

V telesu imamo tudi različne mehanizme, ki HA odstranjujejo, lahko gre za encimsko razgradnjo, predvsem s hialuronidazami, ali pa neencimsko razgradnjo z radikali (4). Ocenili so, da ima hialuronska kislina razpolovni čas v koži približno 24 ur, v drugih delih telesa pa lahko tudi do 70 dni (10). Če želimo razumeti, kaj se dogaja s HA pri procesu staranja, je pomembno, da vemo, kje v koži se nahaja, kakšna je njena vloga in kako komunicira z okoljem (3).

Hialuronsko kislino najdemo v koži v zgornjih dveh plasteh, ki jih imenujemo usnjica in povrhnjica (5). Omenjeni plasti sta sestavljeni iz različnih celic in zunajceličnega ogrodja. Slednjega sestavljajo pretežno strukturni proteini, kot sta kolagen in elastin, vsebuje pa tudi glikoproteine, proteoglikane in glikozaminoglikane (hialuronsko kislino) (2). Koža vsebuje več kot 50 % celotne količine hialuronske kisline v telesu. Glavna vloga hialuronske kisline v zunajceličnem ogrodju kože je, da veže vodo in s tem ohranja kožo navlaženo ter posledično bolj napeto (1).

4 EPIDERMALNA HIALURONSKA KISLINA

Dolgo časa so znanstveniki menili, da se hialuronska kislina nahaja le v usnjici kože (v dermisu), pred nedavnim pa so s pomočjo naprednih analizijskih tehnik ugotovili, da je tudi v povrhnjici (epidermisu) (2). Epidermis je sestavljen iz več plasti, delimo ga na živi del in metabolno neaktivno («mrtvo») plast, ki jo imenujemo rožena plast (*stratum corneum*). Glavne celice v živem delu povrhnjice so keratinociti, v njej pa so prisotni tudi melanociti in Langerhansove celice. Prva plast povrhnjice, ki jo od usnjice loči bazalna membrana, je bazalna plast (5).

V tej plasti najdemo hialuronsko kislino znotrajcelično, znanstveniki predvidevajo, da je vpletena v celični cikel keratinocitov. Keratinociti iz bazalne plasti dozorevajo in po-



tujejo proti vrhnjim plastem kože, pri čemer se določena količina hialuronske kisline izloči v prostore med celice. Zunanji hialuronska kislina v teh plasteh je domnevno vpletena v proces luščenja celic na površini kože. V procesu diferenciacije keratinocitov celice dozorevajo, za kar so pomembni mnogi dejavniki, med drugim tudi lamelarna telesca, ki vsebujejo različne snovi. Lamelarna telesca so v granulozni plasti v keratinocitih in izločajo lipide v višje plasti kože. Zadnja plast kože je rožena plast, ki je sestavljena iz dozorelih celic, korneocitov in lipidov, takšna struktura predstavlja bariero za snovi, da bi prehajale iz kože ali vanjo. Izločanje lipidov v granulozni plasti je zelo pomemben dejavnik, ki preprečuje izgube vode vezane na hialuronsko kislino iz globljih plasti kože in jo s tem ohranja ustrezno navlaženo in vitalno (2).

3.2 DERMALNA HIALURONSKA KISLINA

Večje količine hialuronske kisline so v dermisu, kjer jo sintetizirajo fibroblasti. Usnjico sestavlja zgornja papilarna plast, ki vsebuje več hialuronske kisline kot spodnja retikularna plast. Hialuronska kislina v povrhnjici je v stiku samo s celicami, med katerimi se nahaja, v usnjici pa so poleg celic še žilni in živčni pleteži ter limfni sistem, kar pomeni, da lahko iz usnjice vstopa v krvni in limfni obtok in se tako raznese po celotnem telesu oziroma obratno (2). V usnjici opravlja hialuronska kislina različne vloge: uravnava količino vode in posledično osmozni tlak, vpliva na tok ionov in z elektrostatskimi interakcijami stabilizira različne kožne strukture (1). Iz kozmetičnega vidika je pomembno predvsem uravnavanje količine vode. Omenili smo že, da hialuronska kislina v svojo strukturo veže velike količine vode, posledica tega je povečanje voluminoznosti usnjice, kar se navzven kaže kot bolj napeta in gladka koža (2).

4 STARANJE KOŽE IN HIALURONSKA KISLINA

Staranje je kompleksen proces, ki je odvisen od dveh biološko neodvisnih procesov. Prvi proces je prirojeno kronološko staranje, ki ga imenujemo tudi notranje oziroma intrinzično staranje. Povzročajo ga notranji dejavniki, je genetsko pogojeno in ga ne moremo preprečiti; samo vplivamo lahko na izražene simptome in ga s tem upočasnimo. Drugi proces je staranje pod vplivom zunanjih dejavnikov, ki ga imenujemo ekstrinzično oziroma zunanje staranje, najpogosteje zaradi vpliva ultravijoličnega sevanja, zato velikokrat takšno staranje imenujemo tudi fotostarjanje (1).

4.1 KRONOLOŠKO STARANJE

Kronološko staranje je povezano predvsem s hormonskimi spremembami, ki se pojavijo s staranjem telesa. Pomanjkanje estrogenih in androgenih hormonov privede do povečane razgradnje kolagena in elastina, atrofije povrhnjice, izgube vode in nastanka gub (1). Poleg tega celice niso več zmožne proizvajati tolikšnih količin hialuronske kisline, s čimer se zmanjša vsebnost le-te v usnjici in povrhnjici (2). Dejavnik, ki je skupen notranjemu in zunanjemu staranju, so reaktivne kisikove spojine in oksidativni stres, ki ga ti povzročajo, če so prisotni v prevelikih količinah (1). Reaktivne kisikove spojine v telesu stalno nastajajo v manjših količinah pri normalni celični presnovi in sintezni nekaterih hormonov. Problem se pojavi pri nekaterih boleznih, na primer pri sladkorni bolezni ali raku, in pri intenzivni telesni obremenitvi, kar poveča celično presnovo in posledično nastajanje reaktivnih kisikovih spojin, ki pospešujejo proces staranja (6).

Klinični znaki, povezani z zgoraj naštetimi dejavniki, ki povzročajo kronološko staranje, so: atrofija povrhnjice, spremembe, povezane s pigmentacijo kože, in pojav plitkih gub in linij. Pogosto se pojavi tudi suha koža (*xerosis cutis*), ki je na dotik groba in suha, lahko je prisotno luščenje, srbečica in posledično tudi rdečina. Glavni vzroki za suho kožo so: zmanjšanje epidermalne kapacitete vezave in zadrževanja vode v koži, povečanje transepidermalne izgube vode, zmanjšana proizvodnja naravnih vlažilcev v koži in tanjšanje epidermalne lipidne bariere (7).

4.2 STARANJE, POVZROČENO Z ZUNANJIMI DEJAVNIKI

Če kronološkega staranja ne moremo preprečiti, pa na staranje, ki ga povzročijo zunanji dejavniki, lahko vplivamo, saj gre za vplive, ki se jim lahko izognemo. Med dejavnike okolja uvrščamo ultravijolično sevanje, onesnaženo okolje in cigaretni dim, mimiko oziroma ponavljajoče se mišične gibe, položaj spanja, prehrano in splošno zdravstveno stanje (8). Kar 80 % sprememb, povezanih s staranjem na obrazu, je posledica prekomernega izpostavljanja ultravijoličnemu sevanju, pod vplivom katerega v koži nastajajo radikali, ki jih uvrščamo med reaktivne kisikove spojine. Radikali povzročajo oksidacijo, peroksidacijo, premreževanje in prelom verig različnih molekul, tudi DNA, vplivajo na proteine in lipide (6) ter na komponente zunajceličnega ogrodja, tudi na hialuronsko kislino. Prekomerno izpostavljanje ultravijolični svetlobi povzroči spremembe v strukturi

Preglednica 1: Vpliv kronološkega staranja in fotostaranja na videz, biološke funkcije in plasti kože – povzeto po (8)

Table 1: Intrinsic and extrinsic factors affecting appearance, properties and biological functions of skin – adapted from (8)

| | Notranje staranje | Fotostarjanje |
|---------------------|---|---|
| Splošno | | |
| metabolni procesi | upočasjeni | znatno pospešeni |
| klinična slika | gladka, nepoškodovana koža s prisotnimi finimi gubami | globoke gube in brazde, usnjata na dotik, marogasta |
| barva kože | zmanjšana količina pigmenta, bledica | neenakomerna pigmentacija |
| začetek | navadno po 50. do 60. letu | najstniška leta |
| Epidermis | | |
| debelina | se zmanjšuje s staranjem | zadebelitev kože |
| proliferacija celic | upočasnjena | pospešena |
| vsebnost vitamina A | povečane količine | minimalna |
| Dermis | | |
| elastin | elastoza | elastogeneza in degeneracija |
| elastniski matriks | minimalno povečanje elastičnih vlaken in njihove debeline | povečana količina elastičnih vlaken, ki nadomešča kolagenski dermalni matriks |
| kolagen | normalne količine | zmanjšane količine |
| vnetni procesi | ni vnetnih procesov | mnogi vnetni procesi z vnetnimi infiltrati |
| mikrocirkulacija | zmanjšano število manjših žil | razširjene žile, mikroteleangiektazije |

HA in nastanek HA majhne molekulske mase, za katero vemo, da je angiogena in povzroča vnetne reakcije (1).

Telo je v času evolucije razvilo obrambne mehanizme, ki organizem ščitijo pred škodljivim delovanjem radikalov in pred oksidativnim stresom. Poznamo tri vrste obrambnih mehanizmov: primarni, sekundarni in terciarni. Primarni mehanizmi preprečujejo nastajanje radikalov, sekundarni jih nevtralizirajo, terciarni pa poskrbijo za popravilo poškodb, ki nastanejo kot posledica delovanja radikalov. Najpomembnejši obrambni sistem predstavljajo antioksidanti, ki jih glede na kemijsko strukturo razdelimo na encimske in neencimske. Med neencimske uvrščamo: glutation, sečno kislino, bilirubin, melanin, vitamine B, C in E, ubikinon in glutation. Med encimske antioksidante pa spadajo: superoksid-dismutaza (SOD), glutation-peroksidaza, glutation-S-transferaza, glutation-reduktaza in katalaza. Antioksidanti upočasnijo ali preprečijo oksidacijo celičnih sestavin, tako da reagirajo z radikali in zaustavijo reakcije, ki jih povzročajo (6). Antioksidanti preprečujejo negativne učinke radikalov, ki v telesu nastajajo pod vplivom primarnega staranja, niso pa zmožni preprečiti učinkov radikalov, ki nastajajo v telesu pod vplivom prekomernega ultravijoličnega sevanja, saj je njihova količina navadno prevelika

oziroma so kapacitete endogenega antioksidativnega obrambnega sistema izčrpane (7). Pod vplivom prekomernega izpostavljanja soncu se spreminjajo tudi količine spojin v koži, zmanjšajo se količine vitaminov C in E, ubikinona in glutationa (2). Zaradi tega pride do okrnjene obrambe telesa pred radikali in s tem do poškodb struktur povrhnjice in usnjice, tudi HA. Ker je HA v koži odgovorna za ustrezno navlaženost in posledično napeto ter gladko kožo, lahko poškodbe HA, zaradi učinka radikalov ali zaradi zmanjšane količine antioksidantov, vodijo v pojav različnih kliničnih znakov. Ker je zmanjšana količina HA oziroma le-ta ni sposobna več vezave tolikšnih količin vode, se pojavi suha koža in posledično gube (1). Druge klinične spremembe na koži, ki so posledica fotostaranja, so: pojav hiperpigmentacij in hipopigmentacij, nastanek *in situ* melanomov (*lentigo solaris*), ki se lahko razvijejo v invazivne melanome (*lentigo melanom*), če jih ne zdravimo, zadebeljena koža in pojav aktiničnih keratoz. Ker ultravijolično sevanje poškoduje tudi celice, lahko pride do njihove nepravilne proliferacije in nastanka benignih in malignih kožnih tumorjev, ki so lahko zelo nevarni (7). Zaradi omenjenih dejavnikov okolja in njihovih posledic je zelo pomembno, da kožo ustrezno zaščitimo, predvsem pred ultravijolično svetlobo, in s tem upočasnimo nekatere procese, ki pospešujejo kronološko



staranje in dodatno povzročijo fotostarjanje kože (8). Natančnejše spremembe, povezane z notranjim in zunanjim staranjem, so povzete v preglednici 1.

5 PRIDOBIVANJE HIALURONSKE KISLINE

Možnosti za pridobivanje HA so različne, najstarejša metoda je ekstrakcija iz živalskih tkiv, ki jo uporabljamo še danes. Druga možnost je pridobivanje s pomočjo mikroorganizmov, predvsem bakterij, najnovejša metoda pa je *in vitro* proizvodnja z encimi (4).

• EKSTRAKCIJA IZ ŽIVALSKIH TKIV

Prva metoda, ki se je uveljavila za pridobivanje HA, je ekstrakcija iz različnih tkiv. Metoda je uporabna tudi v industrijskem merilu. V preteklosti so HA izolirali iz najrazličnejših virov, kot so steklovina očesa, popkovina, prašičja koža, perikardna tekočina zajcev in hrustančno tkivo morskih psov. Glavni viri danes so človeška popkovina, peltinji grebeni, živalska steklovina očesa in goveja sinovialna tekočina. Tako pridobljena HA je navadno polidisperzna, ima veliko molekulsko maso ($> 7,7 \times 10^6$ Da) in je zato primerna za uporabo v kozmetičnih in nekaterih farmacevtskih izdelkih (4).

Sam postopek pridobivanja otežuje dejstvo, da je HA v tkivih velikokrat vezana na druge biopolimere. Danes to ne predstavlja več prevelikega izziva, saj v procesu izolacije uporabljamo proteolitične encime (na primer papain, pepsin, tripsin ...), obarjanje z organskimi topili, detergente in nekatere druge postopke, ki omogočajo sprostitve hialuronske kisline iz kompleksov. Kljub temu so v ekstraktu prisotne nekatere nečistote in razgradni produkti, ki se jih znebimo z ultrafiltracijo, kromatografskimi metodami in membransko filtracijo (slednja omogoča tudi odstranitev mikroorganizmov). Prednost metode je, da ima tako pridobljena HA veliko molekulsko maso, kajti HA majhne molekulske mase lahko deluje vnetno, imunostimulativno in angiogeno. Prav tako imamo na voljo dovolj izhodiščnega materiala. Ker je metoda stara, je tudi tehnologija pridobivanja dobro vzpostavljena. Slabosti metode so: variabilnost produkta, kontaminacija s proteini, nukleinskimi kislinami in virusi, čas in kompleksnost postopka (4).

• PROIZVODNJA Z BAKTERIJAMI

Danes je vodilna metoda za pridobivanje HA velike molekulske mase proizvodnja z bakterijsko fermentacijo, ki se je prvič pojavila okoli leta 1960. Bakterije uporabljajo HA za enkapsuliranje svojih celic, s čimer se izognejo imunskemu odzivu gostitelja. Imunski sistem človeka se na takšen mikroorganizem ne odziva, ker je bakterijska HA identična človeški. Tako pridobljena HA je biokompatibilna in uporabna na področju kozmetologije ter kot dermalno polnilo (4).

Za proizvodnjo največ uporabljamo gram-pozitivne bakterije rodu *Streptococcus* razredov A in C in gram-negativne bakterije *Pasturella multocida*. Ti dve vrsti bakterij sta patogeni, kar predstavlja določeno stopnjo tveganja pri uporabi. Zato so danes bolj uveljavljene metode, pri katerih uporabljamo genetsko modificirane in posledično za človeka nepatogeni mikroorganizme. Med slednje uvrščamo na primer bakterije *Escherichia coli*, rod *Lactococcus lactis*, *Bacillus subtilis* ter bakterije iz rodu *Agrobacterium*, (9). Največ uporabljamo gram-pozitivne bakterije *Streptococcus zooepidemics*, saj pod nadzorovanimi pogoji omogočajo pridobivanje HA v velih koncentracijah, tudi do 7 g/L medija, v katerem bakterije gojimo. Sinteza HA je zahteven proces, ki ga pri vretenčarjih še niso popolnoma razjasnili, nedavno pa so raziskovalci uspeli pojasniti sintezno pot v omenjeni bakteriji. Količina proizvedene HA je v primerjavi z metodami ekstrakcije večja. Prednost predstavlja tudi dobro uveljavljen in nezahteven postopek pridobivanja (4).

• IN VITRO ENCIMSKA PROIZVODNJA

Nova metoda, ki se je pojavila v zadnjem desetletju, je encimska proizvodnja HA z izoliranimi encimi hialuronan-sintazami, ki katalizirajo polimerizacijo prekursorjev HA *in vitro*, pri strogo nadzorovanih pogojih. Encimi so izolirani iz bakterij *Streptococcus pyogenes* in *Pasturella multocida*, kot ekspresijski organizem pa največkrat uporabljamo *E. coli*. Omenjena metoda je relativno nova in še v fazi razvoja, zato zaenkrat še ni uporabna na industrijski ravni (5).

6 VLOGA HIALURONSKE KISLINE V KOZMETIČNIH IN DERMALNIH IZDELKIH

Glavno delovanje, ki ga pripisujemo HA v kozmetičnih izdelkih, je vlaženje kože in zapolnitev manjših gub, na področju dermatologije pa jo uporabljamo kot dermalno

polnilo, ki kožo napne in ji povrne gladkost, uporabna pa je tudi na področju kirurgije (3).

6.1 VLAŽILNE LASTNOSTI V KOZMETIČNIH IZDELKIH

Na ustrezno navlaženost kože vpliva mnogo dejavnikov, tako zunanji (ultravijolično sevanje, klimatske spremembe, vsebnost vlage v okolju, kajenje, stres ...) kot notranji (hormonske spremembe, intrinzično staranje, bolezni ...) (8). Zaradi tega niha raven vode v koži, posledično pa se lahko ta tudi izgublja, kar se izrazi kot suha koža. Takšna koža je izsušena, pordela, luskasta, lahko srbeča in na otip groba. Največ vode vsebuje usnjica, približno 70 %, najmanj pa rožena plast povrhnjice, ki vsebuje manj kot 13 % vode (10).

HA zaradi dobrih viskoelastičnih lastnosti in biokompatibilnosti že dolgo uporabljamo kot kozmetično aktivno sestavino v mnogih negovalnih kozmetičnih izdelkih. Njen glavni namen je vlaženje kože in posledični *anti-ageing* učinek (2). V komercialno dostopnih izdelkih (za kozmetično, dermatološko in kirurško uporabo) najdemo različne oblike HA: linearno, premreženo in njene derivate. Največ uporabljamo naravno prisotno oblika HA, ki je linearna, saj lahko v takšni obliki zaradi svoje hidrofilne narave veže velike količine vode. Pogosto uporabljamo tudi različne kemijske modifikacije linearne oblike molekule, derivate HA in premreženo obliko. Modifikacije linearne oblike niso tako dovzetne za encimsko in kemijsko razgradnjo, s tem se podaljša razpolovni čas HA in posledično je učinek vlaženja dolgotrajnejši. Največkrat uporabljamo derivate, pridobljene z esterifikacijo in sulfatiranjem. Čeprav se s tem zmanjša hidrofilna narava molekule HA, je ta bolj stabilna v fiziološkem okolju, torej manj dovzetna za razgradnjo. Premreževanje je proces, kjer z različnimi premreževalnimi sredstvi, na primer disulfidno in bis-karbodiimidno premreženje, vzpostavimo kovalentne vezi med posameznimi deli molekule HA, da nastane kompleksna tridimenzionalna mreža. Premreženo obliko HA uporabljamo v estetski medicini pri zdravljenju osteoartritisa, v tkivnem inženirstvu ter v estetski kirurgiji kot dermalno polnilo. Derivate HA pa največ uporabljamo v tkivnem inženirstvu (10).

Omejitev pri uporabi v kozmetičnih izdelkih predstavlja predvsem velikost molekule HA. V raziskavah prehajanja HA skozi kožo so ugotovili, da molekule, večje od 300 kDa, težko ali pa sploh ne prehajajo v kožo (11) in ne morejo nadomeščati telesu lastne HA. Poudariti pa moramo, da je

HA v negovalnih izdelkih koristna tudi, če zaradi svoje velikosti ne prehaja v kožo; dermalno nanosena namreč na površini kože tvori tanko plast, ki veže nase vodo iz okolice in s tem kožo vlaži, poleg tega pa preprečuje tudi izgubo vode skozi kožo (10). Molekule HA, manjše od 300 kDa (na primer 50 kDa), lahko penetrirajo v kožo, s čimer je omogočeno vlažilno delovanje v globljih plasteh (11).

Velikost molekule HA ni edina omejitev pri prehajanju le-te skozi kožo. Vemo, da rožena plast povrhnjice predstavlja bariero, ki molekulam iz okolice preprečuje vstop v kožo. Kljub hidrofilni naravi HA in njeni molekularni masi so dokazali, da prehaja v globlje plasti kože preko različnih mehанизmov. Ker je zelo higroskopna molekula, iz okolice veže vodo in s tem vlaži roženo plast. Posledično se tesno naložene celice rožene plasti razrahljajo, kar poveča permeabilnost bariere, zato HA lažje vstopi v globlje plasti povrhnjice. HA ima v svoji strukturi tudi hidrofobne dele, ki ji omogočajo lažje premikanje skozi lipofilno okolje, torej skozi lipidni del rožene plasti in preko membran celic. Tretji dejavnik so receptorji HA, ki so na celicah v bazalni plasti povrhnjice in na celicah usnjice. Ti so zmožni usmerjati naneseno HA, da potuje v globlje plasti kože. Vsi omenjeni dejavniki omogočijo HA lažje prehajanje skozi kožo v globlje plasti, s čimer se poveča učinek vlaženja (13).

HA z vezavo vode zapolni tudi prostore med celicami in s tem poveča voluminoznost kože, posledično jo napne in zmanjša hrapavost ter zapolni manjše gubice, ki so posledica kronološkega ali fotostaranja. Največji izziv pri izdelavi kozmetičnih izdelkov predstavlja molekularna masa in z njo povezana vlažilni in *anti-ageing* učinek (12). Zaenkrat še niso odkrili optimalne molekularne mase, ki bi omogočila dobro prehajanje skozi kožo in dober vlažilni učinek, kar je eden izmed pomembnih ciljev raziskav v prihodnosti (2).

6.2 DERMALNO POLNILO

Poleg vlažilnih lastnosti, ki jih izkazuje HA v kozmetičnih izdelkih, je v zadnjih desetletjih postala ena glavnih učinkovin, ki jih uporabljamo na področju dermatologije in estetske kirurgije za polnjenje linij in gub, ki so posledica staranja. Pojav linij in gub na starani koži je tesno povezan z zmanjševanjem volumna kože, predvsem usnjice, kar je posledica notranjega in zunanega staranja. S staranjem pride do atrofije usnjice, zmanjšane števila elastičnih in kolagenskih vlaken in zmanjšane navlaženosti kože, vsi ti pojavi so povezani z nastankom vse globljih in s staranjem vedno bolj opaznih gub na površini kože. Z odkritjem HA in spo-



znanjem, da je to neimunogena in biokompatibilna snov, jo je raziskovalec Balazs leta 1989 prvič uporabil kot dermalno polnilo (14). Danes je na trgu mnogo različnih dermalnih polnil, ki namesto standardnega kolagena ali botoksa vsebujejo ravno HA. Dermalna polnila so navadno transparentni oziroma brezbarvni viskozni geli, polnjeni v brizgo, s katero nato pripravek injiciramo v gubo (9). Polnila vbrizgamo v papilarni del mehkih tkiv, kjer HA nase veže vodo in s tem poveča volumen kože. Če se volumen kože poveča, se le-ta napne in gube posledično izginejo. Polnila se med seboj razlikujejo v koncentraciji hialuronske kisline, ki se giblje med 4,5 do 30 mg/mL formulacije, in obliki molekule, največkrat uporabljamo premreženo obliko, lahko pa tudi derivate ali redkeje linearno obliko molekule. Velikokrat polnilom dodajamo tudi anestetik, ki omili bolečino pri vbodu z injekcijo. V prvih izdelkih so uporabljali HA živalskega izvora, danes pa zaradi manjšega alergene potenciala večinoma uporabljamo bakterijsko pridobljeno. Ker polnila vsebujejo različne koncentracije HA, se njihovi učinki razlikujejo. Polnila s koncentracijami do 20 mg/mL imajo kratkoročen učinek (od 2 do 6 mesecev), med tem ko polnila, ki vsebujejo koncentracije nad 20 mg/mL, lahko učinkujejo tudi do dve leti. Čeprav je kot dermalno polnilo bolj znan kolagen, se uporaba le-tega zmanjšuje, saj ima HA pred kolagenom nekaj prednosti, najpomembnejše so biokompatibilnost in neimunogenost ter dobre viskoelastične lastnosti (14).

6.3 UPORABA NA RAZLIČNIH PODROČJIH MEDICINE IN KIRURGIJE

Hialuronska kislina ima poleg kozmetičnih vlog tudi pomembno mesto v farmaciji in medicini. Pomembno vlogo ima v regenerativni medicini, kjer jo v obliki hidrogela uporabljamo kot nosilec, v katerega se vgradijo celice (na primer stromalne mezenhimske celice, hrustančne celice) ali rastni dejavniki. Takšni nosilci so uporabni za regeneracijo tkiv in v tkivnem inženirstvu, predvsem na ortopedskem področju. Raztopine, osnovane na hialuronski kislini z dodanimi proteini (na primer kolagenom) ali ogljikovimi hidrati (na primer derivati celuloze), uporabljamo za zmanjševanje celične adhezije tkiv po operativnih posegih, ki nastane med sosednjimi tkivi, ki so bila prizadeta v kirurškem posegu (15). Ta učinek pripisujemo hidrofilni naravi raztopin ali gelov, ki jih tvori HA. Ker zmanjša adhezijo, jo lahko uporabljamo tudi za preprečevanje adhezije bakterij na biomateriale, ki jih uporabljamo v kirurgiji, s čimer zmanjšamo možnost nastanka biofilma in posledično tveganja za

okužbe pri pacientu. Njene antiadhezivne lastnosti izkoriščamo tudi za povečevanje kompatibilnosti kardiovaskularnih implantatov (3). V kirurgiji jo uporabljamo še za spodbujanje angiogeneze in posledično boljše celjenje ran, v tem primeru jo v obliki gela z dodanimi rastnimi dejavniki vbrizgamo v določeno tkivo, kjer je regeneracija potrebna. Takšni geli zmanjšajo infiltrate vnetnih celic na apliciranem mestu (15).

7 SKLEP

Hialuronska kislina in njena pogosta uporaba v kozmetičnih in dermalnih izdelkih je posledica zelo dobrega vlažilnega učinka, zaradi česar je pogosta sestavina tako imenovanih *angi-aging* izdelkov za zrelo kožo in vlažilnih kozmetičnih izdelkov. Zaradi razvoja tehnologij danes ni problematična za pridobivanje, poleg tega je biokompatibilna, varna in naravna, saj je normalno prisotna v človeškem telesu. Omejitev pri uporabi v kozmetičnih in drugih izdelkih predstavlja njena molekulska masa in s tem povezano prehajanje skozi kožo, od česar je odvisen učinek vlaženja. Večja kot bo molekula, večji bo učinek vlaženja, vendar pa bo HA težje prehajala skozi kožo. Najti ravnovesje med molekulsko maso HA in učinkom vlaženja v izdelkih je zaenkrat še izziv za prihodnost. Zaključimo lahko, da je HA vsestransko uporabna sestavina mnogih izdelkov in da je razvoj na tem področju zelo koristen za kozmetologijo, medicino in kirurgijo.

8 LITERATURA

1. Eleni P, Michael R, Gorge K. Hyaluronic acid A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol* 2012; 4(3): 253–258.
2. Robert S, Howard IM. Hyaluronan in skin: aspects of aging and its pharmacologic modulation. *Clinics in Dermatology* 2008; 26(2): 106–122.
3. Necas J, Bartosikova L, Brauner P et al. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinari Medicina*, 2008; 53(8): 397–411.
4. Carmen GB, Jan S, Floor KK et al. Production Methods for Hyaluronan. *Int J Carbohydr Chem* 2013.
5. Miranda AF, Kenneth WM, Peter E et al. Structural Characteristics of the Aging Skin: A Review. *Cutan Ocul Toxicol* 2007; 26: 343–357.
6. Joško O. Oksidativni stres. *Zdr Vestn* 2012; 81: 393–406.

7. B. Žgavec. Vpliv ultravijoličnega sevanja na kožo: morfološko-klinično-praktični vidiki. V: Kočevar Glavač N, Zvonar A. *Koža in sonce: kozmetično aktivne sestavine, izdelki za zaščito in aktivno nego kože*. Fakulteta za farmacijo 2012; 8–15.
8. Farange MA, Miller KW, Elsner P et al. *Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review*. *Int J Cosmet Sci* 2008; 30(2): 87–95.
9. David JG. *Dermatology: An Illustrated Colour Text*. Churchill Livingstone, 2002; 80–110.
10. Chiara S, Annalisa La G, Mario De R. *Biotechnological Production and Application of Hyaluronan*. V: Magdy Elnashar. *Biopolymers*, Sciyo, Rijeka, 2010: 387–412.
11. Farwick M, Lersch P, Strutz G. *Low Molecular Weight Hyaluronic Acid: Its Effects on Epidermal Gene Expression and Skin Aging*. *SÖFW-Journal* 2008; 134(11): 17–22.
12. Lenaers C, Barruche V, Bon G et al. *A New Approach of Dry Skins: Use of a Regulator of the Epidermal Circulating Hydration Process*. *SÖFW-Journal* 2006; 132(11): 30–37.
13. Brown MB, Jones SA. *Hyaluronic acid: a unique topical vehicle for localized delivery of drugs to the skin*. *JEADV* 2005; 19(3): 308–318.
14. Michael HG. *Use of hyaluronic acid fillers for the treatment of the aging face*. *Clin Interv Aging* 2007; 2(3): 369–376.
15. Stephan R, Günter L. *Hyaluronan, a Ready Choice to Fuel Regeneration: A Mini-Review*. *Gerontology* 2013; 59(1):71–76.

