

Распределение и деградация препарата на основе гиалуроновой кислоты при субдермальном введении

С. И. Суркичин¹, С. Н. Гресь²

¹ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва

РЕЗЮМЕ

Гиалуроновая кислота – это вязкоупругий гель. Вещество обладает высокой способностью к деформации. Она также обладает такими свойствами, как пластичность, подъемная сила, легкость распределения, мобилизация тканей во время мимической активности мышц лица. Цель исследования: оценка безопасности и эффективности действия ГК на микроскопическом уровне. Исследование проводилось в два этапа. На первом этапе тканевой филлер был введен болюсно субдермально крысам и кроликам. На втором принимали участие женщины-добровольцы. Препарат также вводился болюсно в проблемные области на лице. Помимо гистохимической наблюдения, оценивалась также эффективность процедуры на лице женщины. Продемонстрированы высокая безопасность, а также повышение уровня экспрессии коллагеновых и эластиновых волокон.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гиалуроновая кислота, филлер, исследование, крысы, кролики, распределение.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Distribution and degradation of hyaluronic acid during subdermal administration

S. I. Surkichin, S. N. Gres

¹Central State Medical Academy of the Administrative Department of the President of Russia, Moscow, Russia

²Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

SUMMARY

Hyaluronic acid (HA) is a viscoelastic gel. The substance has a high ability to deform. It also has properties such as plasticity, lift, ease of distribution, and tissue mobilization during facial muscle activity. The aim of the study was to evaluate the safety and effectiveness of HA at the microscopic level. The study was conducted in two stages. In the first stage, the tissue filler was injected bolus-subdermally to rats and rabbits. The second stage involved female volunteers. The drug was also administered to the problem areas on the face. In addition to the histochemical observation, the effectiveness of the procedure on the woman's face was also evaluated. High safety was demonstrated, as well as an increase in the expression level of collagen and elastin fibers.

KEY WORDS: hyaluronic acid, filler, research, rats, rabbits, distribution.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare that they have no conflicts of interest.

Кожа, как и любой орган человеческого организма, состоит из множества клеток, ионов и веществ. Одной из важных составляющих внеклеточной среды кожного покрова является гиалуроновая кислота (ГК). Она обладает свойством поддерживать влажную среду на месте раны. Благодаря этому активируется множество клеточных компонентов для заживления и восстановления тканей.

В косметологии ГК активно используется для процедур омоложения, выравнивания пропорций лица и тела. Это безболезненные и весьма безопасные методы ухода за лицом, которые обеспечивают быстрый видимый результат. С помощью наполнителей с ГК можно сгладить морщинки, подтянуть складки и даже скорректировать овал лица. Уже более 15 лет инъекции с гиалуроновой кислотой занимают уверенное второе место по популярности в индустрии нехирургической косметологии.

Особенность ГК в ее вязкоупругой консистенции. Вязкий компонент придает способность деформироваться. Эластичная составляющая геля помогает ему возвращаться к своей исходной форме. В процессе производства эти ком-

поненты объединяют и получают вещество с желаемыми свойствами. Его пластичность, легкость распространения, отсутствие скованности тканей и мимических мышц в процессе их работы, подъемная сила, все это дает уверенный эффект косметологической процедуры.

Для отличного эстетического результата важны такие параметры вводимого вещества, как вязкость и деформируемость. Правильное соотношение этих показателей – ключ к формированию естественности корректируемых изгибов. Чем выше деформируемость и чем ниже вязкость, тем лучше гель распространяется в ткани.

Молекула ГК состоит из многократного повторения простого дисахарида – основного элемента внеклеточного матрикса. ГК – обязательная составляющая внеклеточной среды нервной, эпителиальной и соединительной тканей. Она может менять свойства окружающих тканей – удерживать или освобождать молекулы воды, ионы или факторы роста. В тканях она складывается в цепочки разной длины. Крупнейшими «поставщиками» ГК являются клетки соединительной ткани. Вещество метаболизируется очень быстро – ежедневно деградирует около 30%.

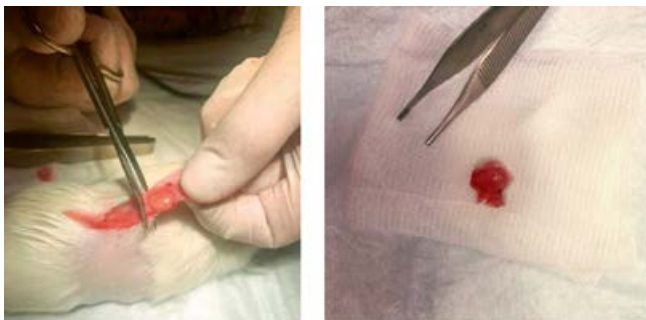


Рисунок 1. Забор биоматериала для гистологического исследования: А – выделение участка кожи с подкожной клетчаткой; Б – забор биоматериала.

Благодаря содержащимся в составе протеогликанам, которые имеют высокий отрицательный заряд, молекулы ГК притягивают и удерживают молекулы воды. Этот механизм лежит в основе увлажняющих и питающих свойств вещества. ГК также играет связующую роль с коллагеновыми волокнами, что придает ей свойства повышать упругость кожи.

Для наглядности демонстрации популярных свойств гиалуроновой кислоты, а также для контроля косметического эффекта и безопасности подкожного введения препаратов на основе ГК проведены два исследования.

Первый этап производился с использованием лабораторных животных на базе клиники ветеринарной медицины «Айболит» Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина (филиал кафедры биологии и патологии мелких домашних, лабораторных и экзотических животных) для оценки распределения тканевого наполнителя на основе ГК в тканях.

Было отобрано 10 лабораторных крыс и кроликов женского пола. Ранее на животных не проводились какие-либо испытания, они были соматически здоровы и без признаков беременности. Каждому подопытному вводили препарат на основе гиалуроновой кислоты концентрацией 20 мг/мл в четыре точки болюсно в объеме 0,2 мл на каждый болюс в область спины. Забор участков тканей (биопсия) производился на 7-й день, 1-й, 3-й и 6-й месяцы после введения вещества.

Взятый материал фиксировался в 10%-ном нейтральном формалине. Затем биоптаты заливались в парафин. Серийные парафиновые срезы окрашивались гематокси-

лином и эозином. Морфологическая картина взятых препаратов кожи оценивалась судебно-медицинским экспертом.

Следующий этап проводился на базе Центральной государственной медицинской академии. В нем приняли участие женщины от 21 года до 65 лет.

Основными условиями участия пациенток были: добровольное согласие; возраст старше 18 лет; отсутствие беременности и лактации; отсутствие злокачественных новообразований, острых инфекций, обострения системных болезней; отсутствие аутоиммунных заболеваний; отсутствие лечения гормональными препаратами и цитостатиками или период более 3 месяцев с момента приема глюкокортикостероидов и (или) цитостатиков; отказ от участия в других исследованиях.

Перед началом эксперимента все участники были тщательно обследованы. У них был собран подробный анамнез жизни и заболеваний, а также проведен ряд диагностических манипуляций, в том числе фотофиксация и МРТ до начала исследования.

В ходе эксперимента женщинам вводили препарат на основе гиалуроновой кислоты концентрацией 20 мг/мл в области проблемных зон лица для коррекции возрастных изменений. Двум женщинам из пяти филлер ввели в область подбородка и углов нижней челюсти, одной пациентке – в скулы, другой – в область носогубных складок. Пятой участнице препарат был введен в область губоподбородочных складок. Препарат также был введен болюсно в две точки заушного пространства – для биопсии материала для гистологического исследования. Далее, на 7-й день, затем на 1-й и 3-й месяц после введения проводился забор биоматериала с последующей окраской биоптатов гематоксилин-эозином. Через 3 месяца проводилось иммуногистохимическое исследование. А на 4-й и 12-й месяцы после инъекции – вновь фотофиксация и МРТ головы. Общий срок наблюдения за участницами – 1 год.

Результаты

Оценка биоптатов подкожной клетчатки крыс и кроликов. Через 7 дней на участке среза ПЖК крысы была видна полость с базофильным веществом, окруженная отечной рыхлой фиброзной тканью. Также прослеживалось небольшое количество сосудов, слабая инфильтрация эозинофилами, единичными лимфоцитами и макрофагами (рис. 2).

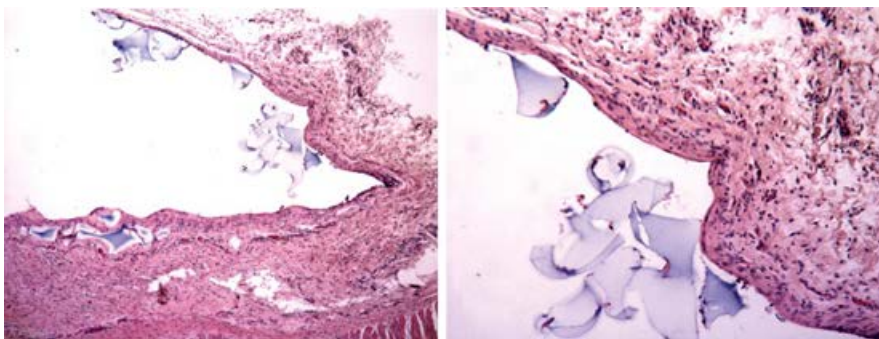


Рисунок 2. Участок среза кожи и подкожной клетчатки крысы через 7 дней после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40х.

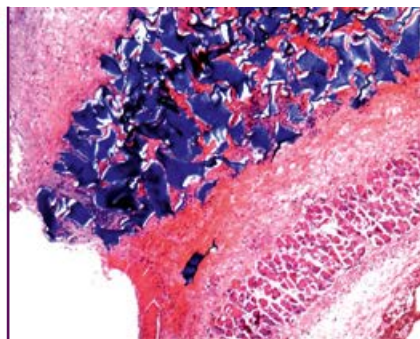


Рисунок 3. Участок среза кожи и подкожной клетчатки кролика через 7 дней после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40х.

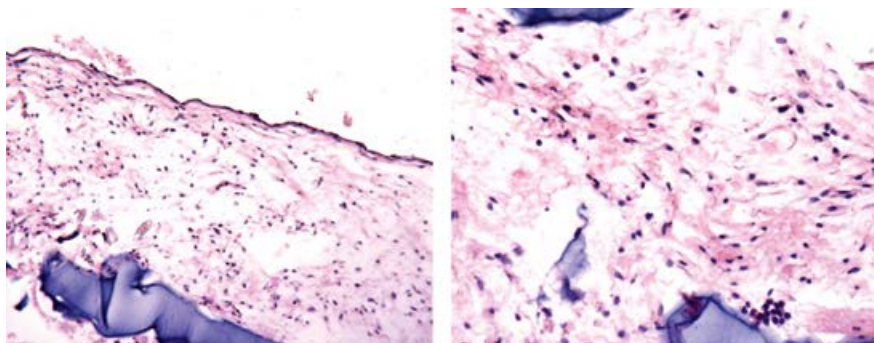


Рисунок 4. Участок среза кожи и подкожной клетчатки крысы через 30 дней после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40× (А) и 200× (Б).

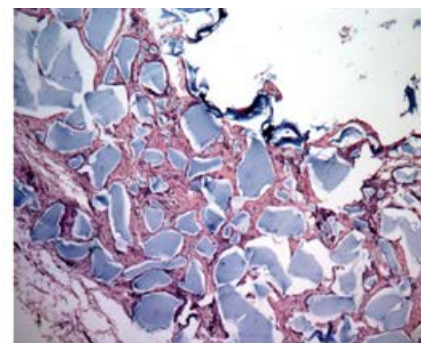


Рисунок 5. Участок среза кожи и подкожной клетчатки кролика через 30 дней после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40×.

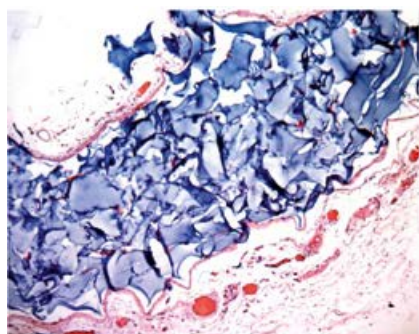


Рисунок 6. Участок среза кожи и подкожной клетчатки крысы через 3 месяца после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином ув. 100×.

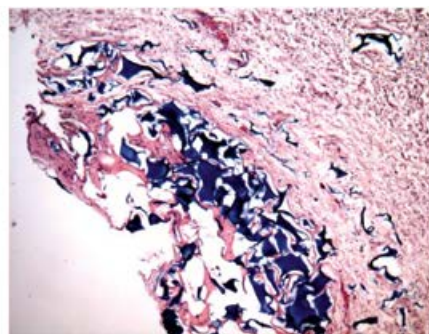
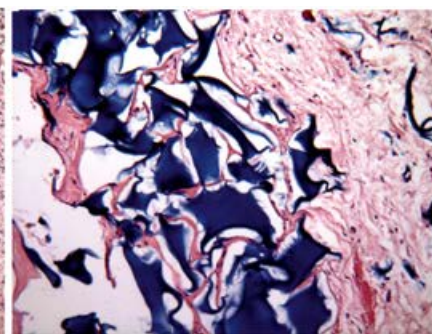


Рисунок 7. Участок среза кожи и подкожной клетчатки кролика через 3 месяца после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40× (А) и 100× (Б).



В подкожной ткани кролика через 7 дней – очаговое, четко отграниченное образование из множества лакун разного размера. Лакуны, заполненные гиалуроновой кислотой, были окружены тонкими тяжами низко клеточной фиброзной ткани (рис. 3).

При наблюдении через месяц в подкожной ткани крысы полость с базофильным веществом уже была четко отграничена. В окружающей фиброзной ткани, помимо прочих включений, прослеживались дезориентированные пучки фибробластов (рис. 4).

Через 30 дней в глубоких слоях дермы и подкожной ткани кролика образовалась большая псевдокистозная полость со скоплениями базофильного вещества в просвете. Это гиалуроновая кислота. Наблюдалась хорошо васкуляризированная окружающая клетчатка (рис. 5).

Через 3 месяца в подкожной клетчатке крысы – хорошо отграниченная полость, заполненная гиалуроновой кислотой. Полость окружал плотный ободок тонкой фиброзной ткани с хорошей сосудистой сетью (рис. 6).

Через 3 месяца в глубоких слоях кожи кролика – много мелких лакунарных образований, плотно или рыхло расположенных, заполненных гиалуроновой кислотой. Лакуны окружены тонкими тяжами фиброзной ткани с умеренной сосудистой сетью и редкими эозинофилами и макрофагами (рис. 7).

Через 6 месяцев в подкожной ткани крысы образовалась псевдокистозная полость. Она была окружена тонким ободком плотной фиброзной ткани с неравномерной сосудистой сетью и мелкими редкими очагами мононуклеарной инфильтрации. В просвете полости, а также в окружаю-

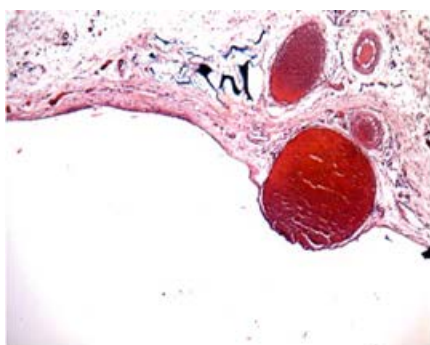


Рисунок 8. Участок среза кожи и подкожной клетчатки крысы через 6 месяцев после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40× (А) и 100× (Б).

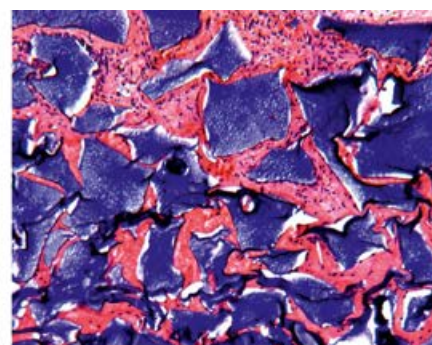
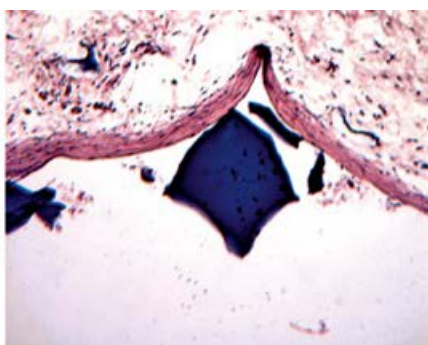


Рисунок 9. Участок среза кожи и подкожной клетчатки через 7 дней после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 200×

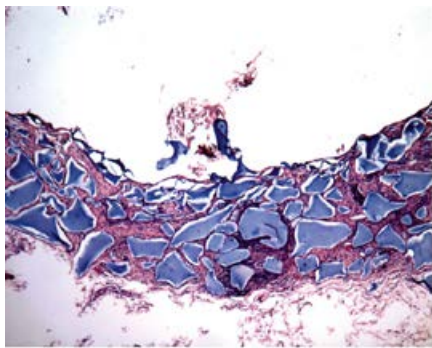


Рисунок 10. Участок среза кожи и подкожной клетчатки через 30 дней после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40×

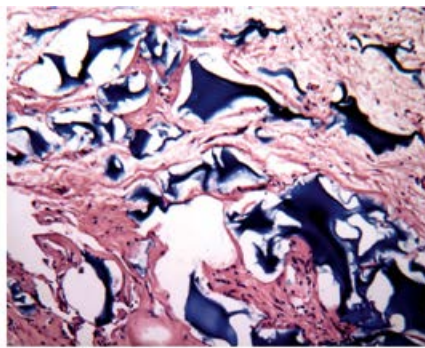


Рисунок 11. Участок среза кожи и подкожной клетчатки через 3 месяца после введения препарата гиалуроновой кислоты. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 100×

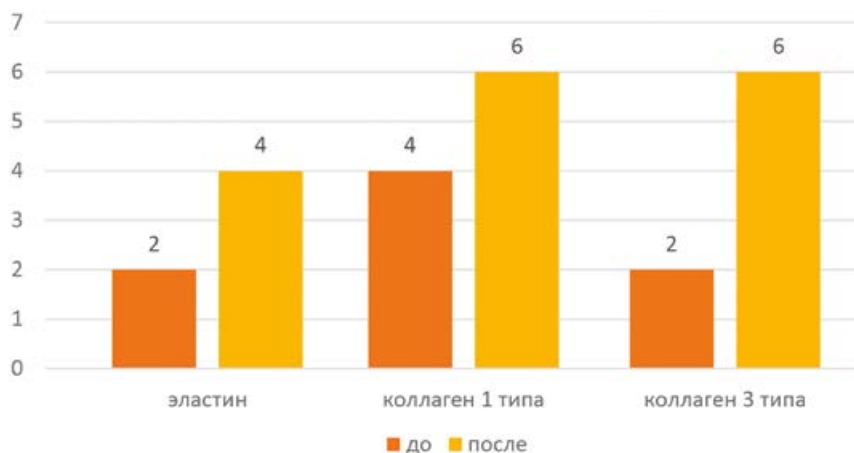


Рисунок 12. Изменение экспрессии эластина, коллагена 1-го типа и коллагена 3-го типа, по данным иммуногистохимического исследования биоптатов кожи.

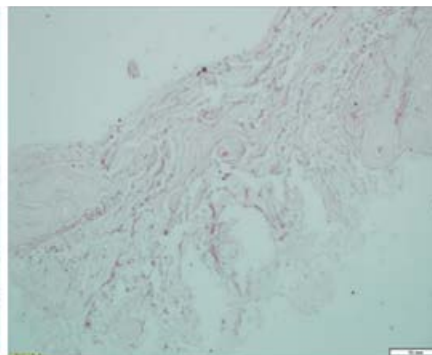
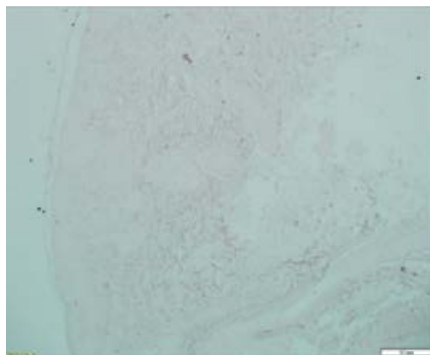


Рисунок 13. Участок среза кожи и подкожной клетчатки до (А) и через 3 месяца (Б) после введения препарата гиалуроновой кислоты – иммуногистохимическое исследование экспрессии эластина.

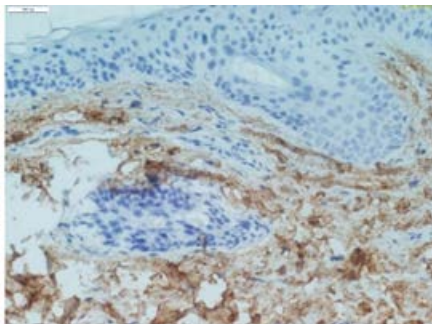
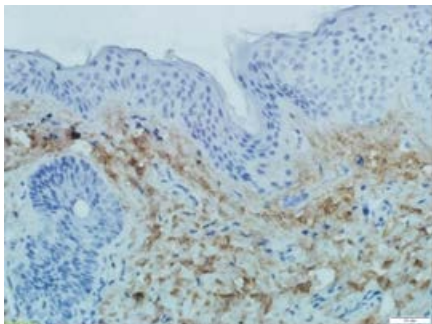


Рисунок 14. Участок среза кожи и подкожной клетчатки до (А) и через 3 месяца (Б) после введения препарата гиалуроновой кислоты – иммуногистохимическое исследование экспрессии коллагена 1-го типа.

щей жировой ткани присутствовало небольшое количество базофильного бесклеточного вещества (гиалуроновая кислота). В окружающей жировой ткани – гиперемия капилляров с мелкими очагами мононуклеарного воспаления и незначительная фиброплазия (рис. 8).

Результаты второго этапа исследования

Перед гистологической оценкой биоптатов следует обратить внимание на субъективную оценку докторов. Врачи, проводившие процедуры женщинам, отметили высокую пластичность филлера. Он легко вводился, хорошо распределялся, не мигрировал и хорошо моделировался в тканях.

На 7-й день после введения препарата в подкожно-жировую клетчатку было видно очаговое, четко отграниченное образование из множества лакун различного размера. Лакун оказались заполнены гиалуроновой кислотой и окружены тонкими тяжами фиброзной ткани с очагами кровоизлияния и мелкими очагами инфильтрации макрофагами, эозинофилами, лимфоцитами и редкими нейтрофилами (рис. 9).

Через 30 дней образовалась крупная псевдокистозная полость со скоплениями гиалуроновой кислоты в просвете. В окружающей полость дерме и гиподерме – большое количество разнокалиберных лакун, заполненных гиалуроновой кислотой. Рыхлая фиброзная ткань была снабжена хорошей сосудистой сетью (рис. 10).

Через 3 месяца в глубоких слоях кожи обнаружилось много мелких лакунарных образований, плотно или рыхло расположенных. Они были заполнены гиалуроновой кислотой, окружены тонкими тяжами умеренно васкуляризированной соединительной ткани. Эозинофилы и макрофаги были расположены редко.

По данным иммуногистохимического исследования, через 3 месяца после введения филлера был отмечен высокий подъем экспрессии эластина (рис. 13), коллагена первого (рис. 14) и третьего типов (рис. 15).

Соответственно произошла активация процессов неоколлагеногенеза в месте инъекции ГК. При статистической обработке результатов по критерию Манна–Уитни различия оказались достоверными ($p < 0,05$).

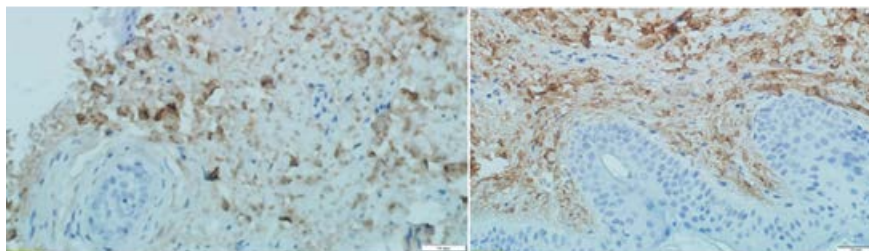


Рисунок 15. Участок среза кожи и подкожной клетчатки до (А) и через 3 месяца (Б) после введения препарата гиалуроновой кислоты – иммуногистохимическое исследование экспрессии коллагена 3-го типа.

Результаты введения ГК оценивались у кроликов, крыс и людей через одинаковые промежутки времени. На гистологических срезах животных и женщин прослеживалась поэтапная перестройка тканей в ответ на введение ГК – образование ограниченных полостей с веществом и тонким фиброзным ободком, разрастание сети капилляров.

По результатам гистологического исследования, препарат доказал безопасность действия и распределения на тканевом уровне – образование отграниченных полостей с ГК, отсутствие миграции вещества, разрастание капиллярной сети. По данным иммуногистохимии, наблюдался рост экспрессии коллагена и эластина.

В ходе исследования препарат доказал безопасность, деформируемость в тканях. У женщин-добровольцев эстетический эффект от процедуры сохранялся в течение года наблюдения.

Список литературы / References

1. Michaud T. Rheology of hyaluronic acid and dynamic facial rejuvenation: Topographical specificities. *J Cosmet Dermatol*. 2018; 17 (5): 736–743. DOI: 10.1111/jocd.12774
2. Sundaram H, Fagien S. Cohesive polydensified matrix hyaluronic acid for fine lines. *Plast Reconstr Surg*. 2015; 136 (5 Suppl): 149S–163S.
3. Sundaram H, Rohrich RJ, Liew S, et al. Cohesivity of hyaluronic acid fillers: development and clinical implications of a novel assay, pilot validation with a five-point grading scale, and evaluation of six U.S. Food and Drug Administration-approved fillers. *Plast Reconstr Surg*. 2015; 136 (4): 678–686.
4. La Gatta A, Salzillo R, Catalano C, et al. Hyaluronic acid-based hydrogels as dermal fillers: the biophysical properties that translate into a “volumetric” effect. *PLoS One*. 2019; 14 (6): e0218287.
5. Toole BP. Hyaluronan: from extra-cellular glue to pericellular cue. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 528–39.
6. Kogan G, Soltes L, Stern R, Gemeiner P. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnol Lett* 2007; 29: 17–25.
7. Day AJ, Prestwich GD. Hyaluronan-binding proteins: tying up the giant. *J Biol Chem* 2008; 277: 4585–8.
8. Frazer J RE, Laurent TC, Laurent UBG. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turn over. *J Intern Med* 1997; 242: 27–33.
9. Lukhashev ME, Werb Z. ECM signalling: orchestrating cell behaviour and misbehaviour. *Trends Cell Biol* 1998; 8: 437–41.
10. Volpi N, Schiller J, Stern R, Saltés L. Role, metabolism, chemical modifications and application of hyaluronan. *Curr Med Chem* 2009; 16: 1718–45.
11. Csoka AB, Frost GI, Stern R. The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes. *Matrix Biol* 2001; 20: 499–508.
12. Noble PW. Hyaluronan and its catabolic products in tissue injury and repair. *Matrix Biol* 2002; 21: 25–9.
13. Genasetti A, Vignetti D, Viola M, Karousou E, Moretto P, Rizzi M, et al. Hyaluronan and human endothelial cell behavior. *Connect Tissue Res* 2008; 49: 120–3.
14. Gall Y. Acide hyaluronique: structure, métabolisme et implication dans la cicatrisation. *Ann Dermatol Venerol*. 2010; 137 Suppl 1: S30–S39.

Статья поступила / Received 24.03.2021

Получена после рецензирования / Revised 30.03.2021

Принята в печать / Accepted 09.04.2021

Сведения об авторах

С. И. Суркичин, к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии¹, E-mail: surkichins24@mail.ru. ORCID: 0000-0003-0521-0333

С. Н. Гресь, ассистент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и гигиены², E-mail: dubina-sn@rudn.ru. ORCID: 0000-0002-1681-0273

¹ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия»
Управления делами Президента России, Москва

²ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва

Автор для переписки: Грязева Наталья Владимировна, E-mail: tytnrik@yandex.ru.

About authors

S. I. Surkichin, PhD Med, associate prof. at Dept of Dermatovenereology and Cosmetology¹, E-mail: surkichins24@mail.ru. ORCID: 0000-0003-0521-0333

S. N. Gres, assistant prof. at Dept of Public Health, Healthcare and Hygiene², E-mail: dubina-sn@rudn.ru. ORCID: 0000-0002-1681-0273

¹Central State Medical Academy of the Administrative Department of the President of Russia, Moscow, Russia

²Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

For correspondence: Gryazeva Natalia V., E-mail: tytnrik@yandex.ru.

Для цитирования: Суркичин С.И., Гресь С.Н. Распределение и деградация препарата на основе гиалуроновой кислоты при субдермальном введении. *Медицинский алфавит*. 2021; (9): 67–71. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-9-67-71>

For citation: Surkichin S.I., Gres S.N. Distribution and degradation of hyaluronic acid during subdermal administration. *Medical alphabet*. 2021; (9): 67–71. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-9-67-71>

Фонд «Дети-бабочки» открывает первый в России региональный детский центр генных дерматозов

22 апреля 2021 года благотворительный фонд «Дети-бабочки» открывает в Московской области первый в Российской Федерации региональный центр генных дерматозов. В уникальном центре ежегодно будут обследоваться и лечиться около 10 тысяч детей с различными кожными патологиями. Проект реализован фондом при поддержке правительства Москвы и Московской области.

Центр станет ведущей амбулаторной клинической базой, где дети с буллезным эпидермолизом, ихтиозом, псориазом, тяжелыми формами атопического дерматита и другими кожными патологиями смогут пройти обследование, лечение и реабилитацию по стандартам международного уровня в максимально комфортных условиях. Для этого, в частности, будут использоваться мультидисциплинарный подход, программа современной диагностики, регистр с искусственным интеллектом.

Центр открыт на базе отсека консультативно-диагностического отделения Детского клинического многопрофильного центра Московской области (Москва, ул. Большая Серпуховская, 62). Для этого в 2021 году проведен его полный ремонт. Палаты, кабинеты, процедурные комнаты и места общего пользования оборудованы новой мебелью, сантехникой и современным медицинским оборудованием. Для пациентов организована игровая зона.

Прием будут вести ведущие специалисты в области детской клинической дерматологии и других профилей. Это обеспечит мультидисциплинарный подход к диагностике, лечению и реабилитации.

Центр позволит оказывать разноплановую помощь около 10 тысячам детям в год, в том числе из других регионов страны.

Возглавит отделение один из ведущих специалистов в области генных дерматозов в России доктор медицинских наук, профессор Николай Николаевич Мурашкин. На данный момент он успешно руководит другим проектом фонда – первым и единственным в России стационарным отделением для пациентов с буллезным эпидермолизом, которое было открыто в 2015 году по инициативе фонда в НМИЦ здоровья детей.

По словам руководителя фонда «Дети-бабочки» Алены Куратовой, открытие этого центра – важный этап создания сети современных центров генных дерматозов по всей России. «Такой центр дает возможность проходить всех необходимых врачей в режиме амбулатории. Это позволит сэкономить как время, так и бюджетные средства, ведь сегодня такие обследования требуют обязательного двухнедельного нахождения в стационаре», – рассказала она.

Попечитель фонда «Дети-бабочки» – народная артистка России Ксения Раппопорт отмечает, что должностной проект реализован благодаря участию большого количества неравнодушных людей. «Это еще раз подтверждает, что проблема буллезного эпидермолиза перестала быть головной болью исключительно родителей таких детей. И общество, и государство признали ее важность и предлагают реальные пути решения», – прокомментировала она событие.