

## НОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ В МЕЗОТЕРАПИИ. БИОРЕПАРАНТЫ В КОСМЕТОЛОГИИ — ЭВОЛЮЦИЯ ИЛИ РЕВОЛЮЦИЯ?

Н.П. МИХАЙЛОВА

New drugs for mesotherapy. Bio preparations in cosmetology – evolution or revolution?

N.P. MIKHAILOVA

Об авторе:

Н.П. Михайлова — главный врач клиники эстетической косметологии «Реформа», г. Москва

Приведено описание линии препаратов, созданных на основании структурно-модифицированной гиалуроновой кислоты. Продемонстрировано их влияние на синтез коллагеновых волокон и состояние межклеточного матрикса.

Представлены результаты исследований по изучению эффективности применения данных препаратов в коррекции инволюционных изменений кожи.

*Ключевые слова:* модифицированная гиалуроновая кислота, старение кожи.

The authors describe lines of drugs developed on the basis of structurally modified hyaluronic acid. They demonstrate their effect on the synthesis of collagen fibers and state of intercellular matrix.

They also present the results of studies of efficacy of using these drugs for correction of involutinal skin changes.

*Key words:* modified hyaluronic acid, skin aging.

Биорепаранты — препараты нового класса, относящиеся к препаратам инъекционной косметологии на основе гиалуроновой кислоты (ГК), которые включают в себя также мезопрепараты, биоревитализанты, препараты для биоармирования, филлеры.

Основное показание, при котором применяют все вышеперечисленные средства, — возрастные изменения кожи. Специфика действия разных классов препаратов связана с физическими характеристиками ГК и дополнительными ингредиентами в рецептуре средства. Биоревитализанты, содержащие ГК и субстраты, жизненно необходимые для восстановления кожи, «пришитые» к гиалуроновой кислоте с помощью нанотехнологических методов составили новый класс препаратов. Биорепаранты включают в себя модифицированную гиалуроновую кислоту и «привитые» к ней биоактивные вещества — витамины, аминокислоты, пептиды.

Чтобы понять, в чем заключаются преимущества биорепарантов, как их состав и использование новейших технологий отразились на потребительских свойствах и клинических результатах применения препаратов, нужно вспомнить, какие процессы происходят в дерме при старении кожи. Старение кожи, как частный случай старения всего организма, можно рассматривать с точки зрения

изменения стационарного состояния, при котором сложные соединения — например, коллаген, эластин, гликозаминогликаны и в их числе гиалуроновая кислота — непрерывно синтезируются в ходе одних процессов и распадаются в ходе других. Для поддержания здоровья кожи крайне важна координация процессов синтеза-распада. Существует четкое соответствие между интенсивностью обмена гликозаминогликанов и коллагеновых белков дермы. От соотношения этих процессов зависит интенсивность старения кожи. С возрастом либо при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды в результате уменьшения скорости образования подобных биомолекул и возрастания скорости их распада это соотношение меняется. С этой позиции идеальными могли бы считаться инъекционные препараты, которые при однократном введении достаточно долгое время и в нужном месте создавали бы физиологически благоприятную среду для усиления метаболической активности клеток кожи, что приводило бы к активации синтеза основных компонентов межклеточного матрикса дермы. Для разработки подобных препаратов нового поколения наиболее перспективным является использование наноконтейнерных технологий векторной доставки биологически активных соединений к конкретным клеткам организма.

Инъекционные препараты линии ГИАЛРИ-ПАЙЕР созданы совместными усилиями ученых, работающих в различных областях химии, биологии и медицины. Основой, матрицей-носителем,

в материале ГИАЛРИПАЙЕР является гиалуроно-вая кислота бактериального происхождения. Выбор ГК был не случаен. Двадцатилетний опыт ее применения в препаратах для эстетической медицины однозначно закрепил за ней ведущее место в инъекционной косметологии. Но, безусловно, основной является специфичность ее химического строения. ГК относится к высокомолекулярным полисахаридам (в ее состав может входить до 25 000 дисахаридных звеньев), функциональные группы которых составляют многочисленные свободные гидроксильные группы. Наличие последних обеспечивает возможность структурного преобразования сахаридного основания, что позволяет проводить направленную биоспецифическую модификацию, например, с помощью бифункциональных реагентов, взаимодействующих одновременно с двумя функциональными группами. Такой метод широко применяется при производстве имплантатов на основе ГК, где в качестве бифункционального реагента, как правило, используют 1,4-бутандиолдиглицидиловый эфир (БДДЕ). В строении молекул низкомолекулярных биорегуляторов обычно присутствуют функциональные группы -ОН, -СООН, -NH<sub>2</sub>, -SH, и это дает возможность «привить» на макромолекулу ГК требуемые биологически активные соединения, то есть провести процесс химической иммобилизации.

И еще одно уникальное свойство ГК, позволяющее реализовать адресную доставку необходимых активных ингредиентов, — это биораспознающий мотив в строении полисахаридной макромолекулы, который может взаимодействовать с клеточной поверхностью фибробластов (ГК на поверхности цитоплазматической мембраны связывается специфическими белковыми рецепторами CD 44 и RHAMM).

Для создания биоактивной композиции структурно модифицированной ГК в препаратах линии ГИАЛРИПАЙЕР применяли инновационную технологию твердофазной модификации биополимерной смеси при совместном воздействии сверхвысоких давлений и сдвиговых деформаций, которая приводит к протеканию механостимулируемых реакций [1, 2]. Очень важно отметить, что использование подобной технологии позволяет проводить химические реакции взаимодействия полисахаридов с различными низкомолекулярными биорегуляторами без применения бифункциональных технологических добавок. В одностадийном технологическом режиме получали биоактивные композиции на основе ГК с «привитыми» (иммобилизованными) на ней витаминами, аминокислотами, олигопептидами, при этом активные ингредиенты были прочно, ковалентно связаны с макромолекулой полимера [3, 4, 5]. Подобную твердофазную химическую иммобилизацию можно сравнить с пришиванием бисера к ткани. Молекула биологически активного

вещества прикрепляется к ГК прочной ковалентной химической связью. В результате она как бы болтается на «ниточке», образуя при этом ажурный конгломерат большого размера, по сути, своеобразное макромолекулярное «депо» терапевтического средства в месте инъекции. У такой модифицированной ГК ограничена подвижность полисахаридной цепи, по сравнению с нативной структурой, ее уже не так просто «развернуть» и разрушить на субъединицы действующими ферментами — гиалуронидазами. Это приводит к увеличению времени пребывания препарата в дерме. В дальнейшем в результате реакции гидролиза «ниточки», связывающие биоактивные компоненты, рвутся, и в зоне инъекции достаточно продолжительное время в стационарных концентрациях сохраняются необходимые витамины, аминокислоты, олигопептиды.

В результате использования технологии твердофазной модификации были созданы препараты линии ГИАЛРИПАЙЕР, которая включает в себя десять различных биоактивных композиций частично «сшитых» Na<sup>+</sup>, Cu<sup>++</sup> и Zn<sup>++</sup> солей ГК с химически иммобилизованными витаминами (аскорбиновой и фолиевой кислотами, рибофлавином), аминокислотами (глицином, пролином, лизином, валином и витаминоподобными веществами (карнитином)) и олигопептидами (глутатионом). Материал представляет собой прозрачное, бесцветное или слегка окрашенное в голубой или желтый цвет однородное студенистое вещество на основе водного раствора гелеобразующего субстрата.

За исключением ГИАЛРИПАЙЕРА-01 и ГИАЛРИПАЙЕРА-09 во всех препаратах присутствует витамин С в форме аскорбилфосфата магния или натрия. Значение аскорбиновой кислоты (АК) для здоровья кожи трудно переоценить. В научной литературе имеются сведения о способности витамина С влиять на образование гликозаминогликанов, в частности гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфата, и стимулировать пролиферацию фибробластов. Физиологическое действие витамина С связывают не только со стимулированием продукции коллагена, но также и с уменьшением продукции металлопротеиназ — ферментов, разрушающих коллаген дермы. В многочисленных работах подтверждена способность АК улучшать состояние кожи, в том числе уменьшать первичные признаки старения.

Но АК относится к водорастворимым витаминам, поэтому она быстро, не накапливаясь, выводится из организма. Твердофазная технология, примененная в препаратах ГИАЛРИПАЙЕР, позволяет химически «привить» до 95 масс. % АК на макромолекулу ГК и таким образом создать активное «депо» витамина в месте инъекции на достаточно продолжительное время.

Аминокислоты: глицин, пролин, лизин, валин — входят в состав основных белков межклеточного

матрикса дермы. Их присутствие в препаратах линии ГИАЛРИПАЙЕР наряду с другими низкомолекулярными биорегуляторами и микроэлементами необходимо для запуска синтеза собственного коллагена и эластина, что чрезвычайно важно для достижения устойчивого, пролонгированного во времени эффекта.

Серосодержащие аминокислоты — цистеин, метионин и трипептид глутатион — очень мощные антиоксиданты, действующие на различных стадиях свободнорадикального цепного процесса окисления биомолекул. Так, цистеин участвует в синтезе таурина — эффективного антиоксиданта, подавляющего перекисное окисление липидов и связывающего гипохлоританион в форме хлораминового комплекса. В организме цистеин и глутатион восстанавливают окисленную форму витамина С до первоначальной активной формы. Метионин является незаменимой аминокислотой, метаболически тесно связанной с цистеином.

Для усиления антиоксидантных свойств в некоторые препараты ГИАЛРИПАЙЕР введена фолиевая кислота — акцептор ОН радикалов, которая особенно эффективна в присутствии витамина С. К важным функциям фолиевой кислоты относится также ее способность в составе ферментов переносить одноуглеродные радикалы: формил, оксиметил, метил, метилен, метин и формимин — и таким образом участвовать в синтезе аминокислот (например серина или метионина).

Рибофлавин способствует стабилизации межклеточного матрикса соединительной ткани; он также облегчает поглощение кислорода клетками кожи и ускоряет в организме превращение пиридоксина в активную форму.

Карнитин, кроме выполнения основной функции — участия в липотропных процессах окисления жирных кислот как переносчика их активных форм через мембраны, способствует нормализации водно-солевого баланса в коже.

Микроэлементы в виде катионов  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  в комплексе с протеогликанами и гликозаминогликанами межклеточного матрикса формируют тургор кожи.

Медь входит в состав внеклеточного фермента лизилоксидазы, который участвует в образовании внутри- и межцепочечных сшивок в коллагене и эластине. При дефиците меди нарушается образование поперечных сшивок и, как следствие, снижается прочность и упругость коллагеновых волокон. В организме человека цинк в основном сосредоточен в коже; он входит в состав 70 ферментов, большинство из которых участвуют в процессах, препятствующих деградации межклеточного вещества дермы.

Введение микроэлементов в состав препаратов ГИАЛРИПАЙЕР кроме биологического значения имеет также и технологический смысл. Проведение

твердотельной модификации в присутствии солей двухвалентных металлов дает возможность получить частично «сшитую» ГК, период полураспада которой в организме возрастает в несколько раз, причем степень ретикуляции (сшивки) биополимера является технологически заданным параметром. Проще говоря, достигая определенной степени ретикуляции ГК, можно управлять продолжительностью присутствия гиалуринового геля в дермальном слое кожи.

Таким образом, состав каждого препарата линейки ГИАЛРИПАЙЕР имеет строго научное объяснение, основанное как на собственных экспериментальных исследованиях компании «Мартинекс», так и на современных литературных данных.

### Результаты экспериментальных исследований

Опыты на животных по изучению сроков резорбции и тканевой реакции при подкожном введении гелей ГИАЛРИПАЙЕР-02, ГИАЛРИПАЙЕР-05, ГИАЛРИПАЙЕР-08» в межлопаточную область белым крысам проводили в Лаборатории экспериментальной патоморфологии ММА им. И.М. Сеченова. Сроки наблюдения составляли от 1 до 30 суток. Проведенные микроскопические исследования позволяют сделать два очень важных вывода:

1. В биоптатах ткани, взятых из области введения препаратов, не зафиксировано крупных конгломератов геля, а формируются небольшие полости с гелем, окаймленные плохо развитой капсулой. На микропрепарате гелевый материал определяется в виде мелких фрагментов базофильного вещества. У ряда животных ни общих капсул вокруг введенного геля, ни микрокапсул вокруг фрагментов не обнаруживается. Таким образом, введенный препарат биологически инертен, он не инкапсулируется в тканях, а растекается по межтканевому пространству, встраиваясь в межклеточный матрикс. При этом модифицированная ГК является своеобразным «наноконтейнером» биологически активных соединений либо на уровне отдельной макромолекулы, либо небольших равномерно «сшитых» ячеистых структур (при изучении золь-гель методом, основанным на статистической теории образования сетчатых полимеров, в такой сетчатой структуре выявлены наноразмерные периоды в диапазоне от 50 до 300 нм) (рис. 1, 2).

2. Все испытанные препараты приводят к пролиферации фибробластов, которые представлены крупными активными клетками с большим ободком цитоплазмы, а при введении ГИАЛРИПАЙЕР-02, в состав которого входит аминокислотный комплекс, зафиксировано образование коллагеновых волокон. Этот чрезвычайно важный результат экспериментальных исследований предстоит подтвердить дальнейшими исследованиями (рис. 3, 4).

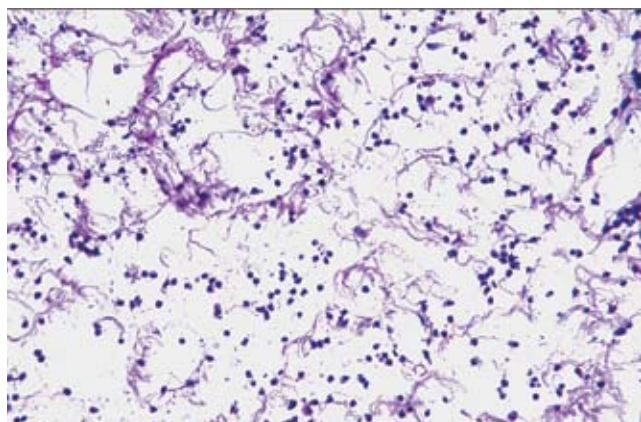


Рис. 1. Патоморфологическая картина через 1 сутки после введения в кожу крысы геля ГИАЛРИПАЙР-02: разволокнение тонко-фибрилярных структур, инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами, лимфоцитами, макрофагами. Окраска г.-э., увеличение  $\times 400$

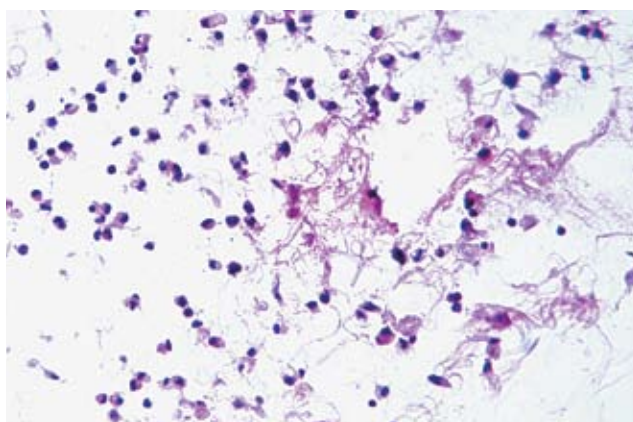


Рис. 2. Патоморфологическая картина через 3 суток после введения в кожу крысы геля ГИАЛРИПАЙР-02: тонко-фибрилярные структуры распределены в геле неравномерно, в верхней части поля зрения видны новообразованные капилляры. Окраска г.-э., увеличение  $\times 400$

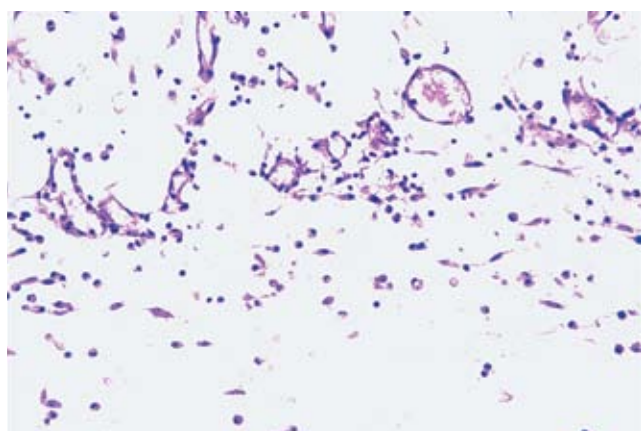


Рис. 3. Патоморфологическая картина через 3 суток после введения в кожу крысы геля ГИАЛРИПАЙР-02: на границе дермы и подкожно-жирового слоя увеличено количество фибробластов, макрофагов, наблюдается пролиферация полнокровных капилляров. Окраска г.-э., увеличение  $\times 400$

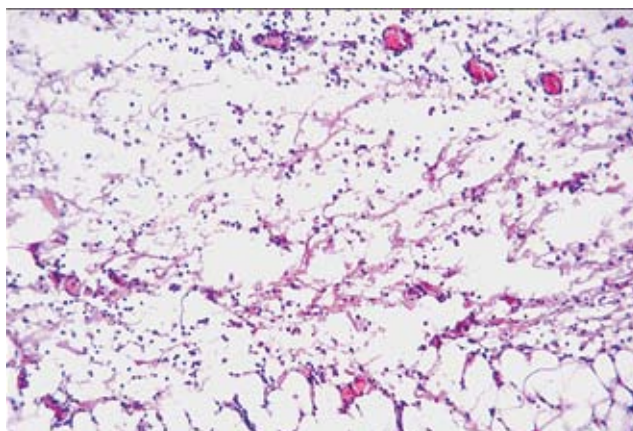


Рис. 4. Патоморфологическая картина через 7 суток после введения в кожу крысы геля ГИАЛРИПАЙР-02: в верхней части поля зрения в зоне введения геля увеличено количество фибробластов, наблюдается формирование коллагеновых волокон, присутствуют пролиферирующие капилляры. В нижней части поля зрения участок подкожно-жирового слоя без признаков патологических изменений. В зоне введения геля не обнаружено формирования соединительнотканной капсулы

### Результаты клинических испытаний

Клинические испытания препаратов линии ГИАЛРИПАЙЕР были проведены в отделении дерматоонкологии и лазерной хирургии Центральной клинической больницы РАН и Институте пластической хирургии и косметологии МЗ РФ. Для подтверждения эффективности препарата проводили измерения эластичности, значений pH и гидратантных свойств кожи.

Как показали исследования, введение препаратов ГИАЛРИПАЙЕР позволяет значительно улуч-

шить показатели вязкостно-эластичных свойств кожи, что может свидетельствовать о стимулировании процессов синтеза собственного коллагена и эластина. У всех испытуемых возросла влажность кожи при неизменном значении показателя pH. В клинических заключениях отмечается, что все препараты линии ГИАЛРИПАЙЕР достаточно легко, без большого усилия вводятся в поверхностные и средние слои кожи, равномерно распределяясь в ней. Инъекции препарата практически безболезненны. Визуально отмечается хороший результат, а именно

происходит выравнивание рельефа поверхностных морщин, улучшается цвет и текстура кожи лица, увеличивается ее тургор, отмечается выраженный лифтинговый эффект. Субъективная оценка пациентами данной процедуры была во всех случаях достаточно высокой.

Проведенные разносторонние исследования свидетельствуют о том, что твердофазная, модифицированная различными низкомолекулярными биорегуляторами ГК в препаратах линии ГИАЛРИПАЙЕР обеспечивает устойчивый пролонгируемый эффект.

В клинике «Реформа» разработана специальная программа биорепарации кожи, включающая в себя инъекционное введение препаратов линии ГИАЛРИПАЙЕР. Методика «биорепарация» подразумевает применение безлекарственных макромолекулярных терапевтических средств (БМТС). Ее задача — активизация метаболизма клеточных структур кожи, восстановление повреждений межклеточного матрикса и последующая превентивная защита дермы от воздействия неблагоприятных, агрессивных факторов внешней среды. Инъекции БМТС смещают баланс обменных процессов, установившихся между клетками и межклеточным матриксом дермы, сдвигают стационарное состояние в этой системе. Инвазивность метода введения БМТС, особенно при использовании его в виде мезотерапии, обуславливает развитие таких же процессов, как и при ранениях кожи, но, очевидно, в меньших масштабах. Повреждаются различные типы клеток в эпидермисе и дерме, что приводит к высвобождению из лизосом лизосомальных ферментов в межклеточный матрикс. Запускается целый каскад межклеточных взаимодействий, состоящий из серий координированных реакций различных типов клеток поврежденной ткани, регулируемых локальными медиаторами — факторами роста. С одной стороны, интенсифицируются процессы расщепления гиалуроновой кислоты гиалуронидазой, отщепление сульфатированных гликозаминогликанов от протеогликанов, протеолиз белков и т. д. А с другой стороны, развиваются процессы репаративной регенерации, противостоящие разрушению и направленные на восстановление структуры межклеточного матрикса. В итоге по закону избыточной компенсации репаративные процессы в клетках не только восстанавливают повреждения, но и приводят к обновлению («омоложению») структур клеток и внеклеточного вещества и способствуют выходу процессов синтеза-распада на более высокий стационарный уровень, при котором они протекают с повышенными скоростями. Этому как раз и способствует присутствие модифицированной низкомолекулярными биорегуляторами ГК как источника биологически активных соединений, необходимых для процессов биорепарации. Вместе с тем развиваются процессы, препятствующие разрушению структур межклеточного вещества свободными радикалами.

### Заключение

Таким образом, создан качественно новый класс препаратов, содержащих гиалуроновую кислоту, применение которых в перспективе может стать одним из основных методов нехирургического омоложения кожи. Впервые в мировой практике в одностадийном технологическом режиме без использования технологических добавок твердофазным методом получены препараты модифицированной ГК, имеющей совершенно иную пространственную структуру, чем в применявшихся ранее препаратах. Кроме ГК эти препараты содержат жизненно важные для кожи низкомолекулярные биорегуляторы. Проведение процесса получения препаратов твердофазным методом в отсутствие растворителей позволило «привить» на макромолекулу ГК водонерастворимые или ограниченно растворимые биоактивные компоненты, такие как рибофлавин, ретинол, токоферол, фолиевую кислоту, и перевести их в водорастворимую форму, удобную для инъекционного введения.

Биоактивные компоненты, находясь в химически связанном состоянии с макромолекулой ГК, приобрели устойчивость при хранении, что особенно важно для таких неустойчивых соединений, как витамины С, Е, А, аминокислоты и др., легко окисляемых в условиях обычного хранения и стерилизации. Вместе с тем молекулярно-массовое распределение ГК стало более однородным, что позволит снизить риск побочных эффектов, связанных с неоднородностью фракционного состава гиалуронана.

Выражаем искреннюю благодарность ученым из различных институтов, принимавшим активное участие на всех этапах разработки, исследования свойств и испытания препаратов линии ГИАЛРИПАЙЕР: д.х.н., проф. Зеленецкому А.Н., к.х.н. Волкову В.П. (ИСПМ РАН им. Н.С. Ениколопова), д.б.н., проф. Бойкову П.Я. (ИПХФ РАН), д.м.н., проф. Шехтеру А.Б., к.м.н. Руденко Т.Г. (ММА им. И.М. Сеченова).

### Литература

1. Хабаров В.Н., Зеленецкий А.Н. Нанотехнологическая ретикуляция гиалуроновой кислоты. Косметик интернетшл. 2008; 2: 8.
2. Хабаров В.Н., Селянин М.А., Зеленецкий А.Н. Твердофазная модификация гиалуроновой кислоты для целей эстетической медицины. Вестник эстетической медицины. 2008; 7 (3): 18—24.
3. Хабаров В.Н., Селянин М.А., Зеленецкий А.Н. Перспективы создания новых препаратов для биоревитализации. Вестник эстетической медицины. 2008; 7 (4): 40—46.
4. Хабаров В.Н., Селянин М.А., Михайлова Н.П., Зеленецкий А.Н. Биоактивные композиции на основе модифицированной гиалуроновой кислоты. Вестник эстетической медицины. 2009; 8 (1): 49.
5. Хабаров В.Н., Бойков П.Я., Чижова Н.А., Селянин М.А., Михайлова Н.П. Значение параметра молекулярной массы гиалуроновой кислоты в препаратах для эстетической медицины. Вестник эстетической медицины. 2009; 8 (4): 16—22.