

Właściwości i zastosowanie kwasu hialuronowego w kosmetologii i medycynie estetycznej

Properties of hyaluronic acid and its application in cosmetology and aesthetic medicine

I BUDOWA I WŁAŚCIWOŚCI KWASU HIALURONOWEGO

I Historia

Kwas hialuronowy został wyizolowany w 1934 roku z ciała szklistego oka krowy przez amerykańskiego naukowca Karla Meyera, który uważany jest za ojca chemii glikozoaminoglikanów, i jego asystenta Johna Palmera [1, 2]. Nazwa kwas hialuronowy HA (*Hyaluronic Acid*) pochodzi z greckiego słowa „hylaros”, co oznacza szklisty, ponieważ przypomina przezroczystą, szklistą substancję o gęstej konsystencji [3-5]. Po raz pierwszy do celów komercyjnych wykorzystał go Endre Balazs i użył w opatentowanym

później procesie piekarniczym jako zamiennik jaj kurzych, a kilkadziesiąt lat później stał się ekspertem w temacie HA [6, 7].

Przez ostatnie 30 lat kwas ten wykorzystuje się w chirurgii oka, pourazowych naprawach tkanek, wspomaganiu gojenia się ran oraz leczeniu stawów metodą wstrzyknięć. Od 1980 roku stał się bardzo popularny w kosmetologii i medycynie, bowiem uważany jest za substancję, która w najszybszy i w najmniej inwazyjny sposób koryguje niedoskonałości twarzy i ciała [8]. Kwas hialuronowy może przywrócić właściwe nawilżenie skóry, poprawić owal twarzy oraz przywrócić jędrność skóry [9-11].

Małgorzata Kucia
Katedra Chemii Ogólnej
Wydział Towaroznawstwa
Uniwersytet Ekonomiczny
w Krakowie
ul. Sienkiewicza 5
30-033 Kraków

T: +48 12 293 78 44
E: malgorzata.kucia
@uek.krakow.pl

» 330

I STRESZCZENIE

Kwas hialuronowy należący do glikozoaminoglikanów jest głównym składnikiem macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki łącznej, występuje też w płynie maziowym stawów, cieple szklistym oka itd. Dawniej był pozyskiwany z grzebieni kogucich lub z pępowiny płodu, obecnie w wyniku procesów biotechnologicznych.

Ze względu na swoje właściwości lepko-sprężyste, składnik ten u ludzi służy za substancję podstawową skóry właściwej, powięzi i większości płynnych podłoży. Jako biopolimer wysoce hydrofilowy funkcjonuje jako substancja nawilżająca, zapewniająca prawidłowe uwodnienie w skórze, pełni funkcję sita ograniczającego wejście patogenów, białek i proteaz, pobudza proliferację fibroblastów, jest induktorem syntezy endogennego HA, czy kolagenu oraz elastyny, chroni komórki przed wolnymi rodnikami, spełnia funkcje immunoregulujące. Z wiekiem ilość kwasu hialuronowego znacząco się zmniejsza, a ok. 80. roku życia ulega zanikowi.

Celem pracy było przedstawienie właściwości kwasu hialuronowego oraz jego zastosowania jako składnika kosmetyków oraz substancji wypełniającej w medycynie estetycznej

Słowa kluczowe: kwas hialuronowy, glikozoaminoglikan, hialuronian, biopolimer, kosmetologia, medycyna estetyczna

I ABSTRACT

Hyaluronic acid, belonging to glycosaminoglycans, is a major component of the extracellular matrix of connective tissue, it also occurs in the synovial fluid of joints, the vitreous of the eye, etc. Previously it was obtained from combs of feline or umbilical cord of the fetus, currently it is obtained by the means of biotechnology.

Due to its visco-elastic properties, this ingredient in humans serves as the base material for dermis, fascia and most liquid media. As a highly hydrophilic biopolymer, it acts as a humectant for proper hydration in the skin and as a sieve for pathogens, proteins and proteases, stimulates fibroblast proliferation, induces endogenous HA synthesis, collagen and elastin, protects against free radicals, and performs immunoregulatory functions. With age, the amount of hyaluronic acid decreases considerably and at the age of about 80 years it declines.

The goal of this paper was to present the properties of hyaluronic acid and its application as component of cosmetics and filler used in aesthetic medicine.

Key words: hyaluronic acid, glycosaminoglycan, hyaluronate, biopolymer, cosmetology, aesthetic medicine

otrzymano / received

14.02.2017

poprawiono / corrected

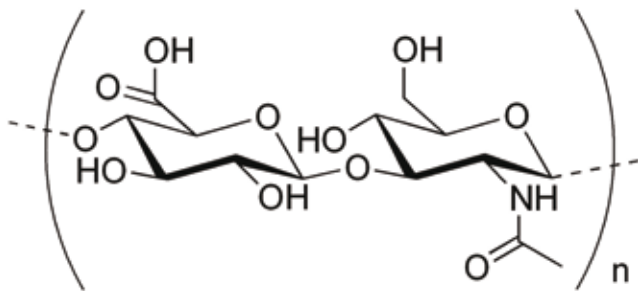
08.03.2017

zaakceptowano / accepted

03.04.2017

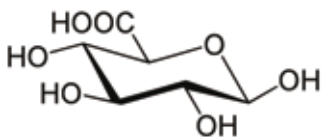
I BUDOWA I WŁAŚCIWOŚCI

Kwas hialuronowy to liniowy polisacharyd i jest jednym z glikoaminoglikanów (GAGs), które stanowią główne komponenty macierzy pozakomórkowej ECM (*Extracellular Matrix*) wszystkich tkanek. Glikoaminoglikany są to nierozgałęzione heteropolisacharydy, które są ułożone naprzemiennie z dwusacharydowych podjednostek. Pojedynczy łańcuch kwasu hialuronowego może zawierać od 20 do nawet 200 sekwencji dwusacharydowych, które się powtarzają i są one połączone wiązaniami glikozydowymi (rys. 1). W skład tej podjednostki wchodzi kwas *D*-glukuronowy (GlcA) i *N*-acetylo-*D*-glukozamina (GlcNAc), a pomiędzy cząsteczkami cukrów występują wiązania, takie jak β -1,3 i β -1,4-glikozydowe (rys. 2 i 3) [4-5, 12-16].

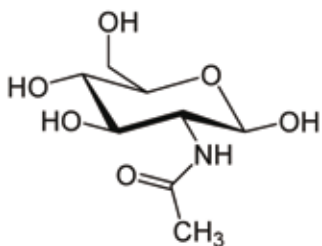


Rys. 1 Struktura kwasu hialuronowego Źródło: [17]

Masa cząsteczkowa podjednostki kwasu hialuronowego wynosi ok. 400 daltonów. Natomiast liczba podjednostek dwusacharydowych może przekraczać nawet 10 000, a zatem ta masa cząsteczkowa może osiągać rozmiary 4×10^6 daltonów [4-5, 13-16].



Rys. 2 Struktura kwasu *D*-glukuronowego Źródło: [18]



Rys. 3 Struktura *N*-acetylo-*D*-glukozaminy Źródło: [19]

Kwas hialuronowy w odróżnieniu także od innych GAGs nie tworzy żadnych kompleksów z białkami i nie wchodzi przez to w skład proteoglikanów (PGs), ale reaguje z nimi w sposób niekwalencyjny, tworząc agregaty proteoglikanów (oś, na której wiążą się inne proteoglikany). Nie posiada on też reszt siarczanowych, jak inne GAGs, jednak ma on charakter polianionowy przez obecność dużej liczby reszt karboksylowych [13, 20-21].

Częste występowanie GAGs w tkankach sprawia, że wchodzą one w interakcje z wieloma typami cząsteczek, takimi jak: białka enzymatyczne, efekторы allosteryczne enzymów (inhibitory lub aktywatory), czynniki wzrostu oraz ich receptory, czynniki transkrypcyjne i białka strukturalne macierzy pozakomórkowej. Te interakcje sprawiają, że modulują one wiele procesów biochemicznych zachodzących zarówno wewnątrz, jak i na zewnątrz komórki. GAGs wywierają wpływ na spistość i elastyczność oraz stopień uwodnienia macierzy pozakomórkowej, a także regulują jej przepuszczalność dla obciążonych ładunkiem cząsteczek [13]. Cząsteczka może zwiększać swoją objętość nawet 1000-krotnie i formułować trwałą, swobodną sieć. HAS zachowuje sztywność poprzez stabilizowane wiązania wodoro- w obecności wody. 1 g kwasu zatrzymuje ok. 6 l wody (ok. 250 cząsteczek wody) [23]. Kwas hialuronowy ma powinowactwo do kationów, wynikające właśnie z polianionowego charakteru. Nie istnieje także żadna swoistość antygenowa dla gatunków lub tkanek, posiada niski potencjał wywołania reakcji alergicznej i immunogennej [4, 13, 22].

W warunkach fizjologicznych w tkankach kwas hialuronowy występuje w formie soli (hialuronianu), najczęściej w postaci soli sodowej (hialuronianu sodowego). Poprzez wiązanie wody kwas hialuronowy ma właściwości wiskoplastyczne (lepkoplastyczne). Lepkość, czyli tarcie wewnętrzne, jest właściwością płynów i plastycznych ciał stałych. Natomiast elastyczność (sprężystość kształtu) to właściwość ciał stałych charakteryzująca się zdolnością do powrotu do odkształconego ciała, jego pierwotnej formy po zaniku sił wywołanych przez odkształcenie. Zazwyczaj roztwory soli kwasu hialuronowego wykazują także właściwości pseudoplastyczne (spadek lepkości wraz ze wzrostem naprężeń ścinających), pozwalając na wstrzykiwanie go przy użyciu igieł o małej średnicy w zabiegach z zakresu medycyny estetycznej. Polimer ten jest odporny na odkształcenia i charakteryzuje się szczególnymi właściwościami lepkości, która zmniejsza się w miarę wzrostu sił odkształcających oraz temperatury. Cechy związane z płynnością są uwarunkowane nie tylko ciężarem cząsteczkowym, ale też stężeniem [24, 25]. Ze względu na swoje właściwości lepko-sprężyste u ludzi kwas hialuronowy służy za substancję podstawową skóry właściwej, powięzi i większości płynnych podłoży. Występuje też u kręgowców, a u bakterii tworzy biofilm, który je otacza. Wysokie stężenie tego kwasu znajduje się w macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki łącznej, ciele szklistym oka, chrząstce szklistej, płynie maziowym stawów, jądrach krążków międzykręgowych, sznurze pępowinowym oraz w skórze właściwej [14, 26-28].

I ŹRÓDŁA KWASU HIALURONOWEGO

Przez długi czas, dla celów kosmetycznych, wykorzystywano głównie kwas hialuronowy pozyskiwany z produktów naturalnych, takich jak: grzebienie kogucie (poprzez ekstrakcję), ludzka pępowina (po raz pierwszy w okulistyce). Niestety z dwóch pierwszych źródeł otrzymywało się go w małych ilościach i w postaci bardzo zanieczyszczonej [8, 16]. Obecnie składnik

ten jest pozyskiwany metodami biotechnologicznymi na drodze fermentacji ze szczepów bakterii *Streptococcus* i *Pasteurella*, gdzie występuje w ich otoczkach [8, 16, 29]. Trwają próby nad uzyskaniem wysokocząsteczkowego kwasu hialuronowego w procesie fermentacji *Bacillus subtilis*, *Pasteurella multocida* i metodami inżynierii genetycznej z transformowanych przez wirus chlorelli PBCV-1 *E. coli* (*Escherichia coli*) [13, 20].

I ROLA KWASU HIALURONOWEGO W ORGANIZMIE CZŁOWIEKA

I Metabolizm kwasu hialuronowego

Biosynteza kwasu hialuronowego odbywa się na wewnętrznej błonie plazmatycznej komórek, gdzie zlokalizowane są enzymy z grupy syntez hialuronowych nazywane glikozylotransferazami HAS-1, HAS-2 i HAS-3, które są kodowane przez spokrewnione ze sobą, ale odrębne geny, zlokalizowane na różnych chromosomach [30-31]. HAs stopniowo i naprzemiennie przyłącza reszty urydynodifosforanu UDP (*uridine diphosphate*)-*N*-acetylo-*D*-glukozaminy UDP-glukuronianu do redukującego końca rosnącego łańcucha polisacharydowego (polimeryzacja cząsteczek kwasu). Wszystko to odbywa się w obecności dwuwartościowych jonów metali – Mg^{2+} lub Mn^{2+} . Jednocześnie w czasie syntezy HA jest przemieszczany do przestrzeni pozakomórkowej przez błonę, umożliwiając niehamowany wzrost polimeru i uzyskanie dużych rozmiarów cząsteczek sięgającej 107 Da. Na zewnątrz komórki wiązana jest woda, tworząc otoczkę ochronną i okołokomórkowe środowisko o odpowiednim stopniu nawilżenia [8, 13].

Oddziaływanie kwasu na komórki odbywa się przede wszystkim za pośrednictwem receptorów, które są obecne zarówno wewnątrz komórek, jak i na błonie komórkowej i nazywane są one hyaladherynami. Receptory wykazujące zdolność łączenia się z kwasem hialuronowym to: błonowy receptor CD44, RHAMM (*Receptor for Hyaluronan Mediated Motility*) inaczej zwany receptorem błonowym CD168, LYVE-1 (*Lymph Lessel Endothelial Hyaluronan Receptor-1*), HARE (*Hyaluronan Receptor for Endocytosis*), Toll4 (TLR4), receptor LEC (*Liver Endothelial Cells*) i ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molekule-1*) [5, 13, 32-33]. Jeśli chodzi o receptor CD44, jest on integralnym białkiem błonowym i występuje w kilku odmiennych izoformach. Oddziaływanie kwasu na komórki docelowe poprzez ten receptor odbywa się za pośrednictwem kaskady kinaz. Wszystko to wpływa na adhezję komórek do składników macierzy pozakomórkowej i skutkuje stymulacją agregacji, proliferacji, migracji oraz angiogenezy. Drugi receptor RHAMM (*Receptor for hyaluronan acid-mediated motility*) jest rozmieszczony w różnych częściach komórek (błona komórkowa, cytoszkielet, mitochondria oraz jądro komórkowe). Wiązanie hialuronianu do błony komórkowej odgrywa ważną rolę w aktywowaniu kaskady kinaz poprzez funkcję jako receptora integralnych receptorowych białek błonowych. Białko RHAMM posiada zdolności współdziałania z kinazami, kalmoduliną, cytoszkieletem. Ma również zdolność do pobudzania ruchliwości komórek [13, 34-37].

Naturalny kwas hialuronowy ma okres półtrwania od 1 do 2 dni, gdyż potem ulega rozpuszczeniu w wodzie i degradacji, pod wpływem enzymów w wątrobie, do dwutlenku węgla i wody [4, 8, 20, 35]. Istotnymi kofaktorami w procesie degradacji kwasu hialuronowego są kwas askorbinowy i pochodne żelaza [4, 36]. Okres półtrwania we krwi jest najkrótszy i wynosi 2-5 minut, w skórze – 12 godzin, natomiast w chrząstkach – 1-3 tygodnie, a w ciele szklistym oka nawet ponad 2 miesiące [8]. Szybkość reakcji prowadzącej do degradacji tego kwasu uzależniona jest od tkanki, w jakiej proces ten zachodzi. Pewna część tego biopolimeru ulega rozkładowi w miejscu syntezy i w pierwotnym miejscu występowania w danej tkance, następna część wędruje z limfą do węzłów chłonnych (może też tam być rozłożona), a pozostała część dostaje się do krążenia ogólnego, z którego częściowo usuwana jest przez komórki śródbłonkowe naczyń zatokowych wątroby, a minimalne ilości, które pozostały, wydalone są przez nerki. Enzymatyczna degradacja zachodzi z udziałem hialuronidaz oraz lizosomalnych egzoglikozydaz – *N*-acetylo- β -*D*-glukozaminidazy (β -NAG), ale też przy udziale reaktywnych form tlenu RFT (*Reactive Oxygen Species*), tzw. wolnych rodników. Na zmniejszenie tych ostatnich można wpływać poprzez zewnętrzne wspomaganie naturalnej ochrony autooksydacyjnej organizmu. Hialuronidazy są aktywne w środowisku o pH nieprzekraczającym 7,0 [13, 30-31]. Geny dla tych enzymów 1,2 i 3 (HYAL-1, HYAL-2, HYAL-3) są zlokalizowane na 3 chromosomie (3p21.3). Nieenzymatyczna degradacja może zachodzić przy udziale wolnych rodników, pod wpływem pH, ultradźwięków czy temperatury. HA jest bardzo wrażliwy na działanie RFT, co może być przyczyną powstawania miejscowych stanów zapalnych [13].

I WYSTĘPOWANIE

I FUNKCJE KWASU HIALURONOWEGO W SKÓRZE

Skóra jest jednym z większych depozytów hialuronianu w organizmie, u dorosłych zawiera ona ok. 8 g HA [13, 37]. Łączy proteoglikany w agregaty i poprzez interakcje z białkami macierzy utrzymuje właściwą strukturę tkanki. Jako biopolimer wysoce hydrofilowy funkcjonuje jako substancja nawilżająca zapewniająca prawidłowe uwodnienie w skórze i jako osmotycznie czynny bufor oraz jako sito ograniczające wejście patogenów, białek i proteaz. Występując wewnątrz komórek, bierze udział w regulacji ich wzrostu, podziałów i ruchliwości [13]. Polimer ten pobudza proliferację fibroblastów, jest induktorem syntezy endogennego HA czy kolagenu oraz elastyny, ochrania komórki przed wolnymi rodnikami, spełnia funkcje immunoregulujące [38, 39]. Występowanie kwasu w naskórku jest niewielkie ze względu na nieduże przestrzenie międzykomórkowe i wynosi około 0,1-0,2 mikrograma/miligram suchej masy tkanki [5, 13, 37]. Najmniejsze ilości są w warstwie podstawnej, natomiast najobficiej występuje w warstwie kolczystej naskórka. W warstwie ziarnistej i rogowej naskórka nie stwierdzono jego obecności [40]. W skórze właściwej znajduje się w warstwie brodawkowej i w mikrofibrylach kolagenu oraz

między włóknami kolagenowymi a sprężystymi. Niestety z wiekiem ilość kwasu hialuronowego znacząco się zmniejsza, a ok. 80. roku życia ulega całkowitemu zanikowi [26, 40]. Do głównej funkcji kwasu hialuronowego należy utrzymanie przestrzeni międzykomórkowych, co umożliwia wymianę w nim substancji odżywczych oraz produktów przemiany materii. Kwas hialuronowy tworzy koloidalne żele zapewniające odpowiednie środowisko dla różnicujących się keratynocytów. Hialuronian umożliwia komórkom układu odpornościowego migrację przez naskórek, funkcjonując jako bardzo efektywny zmiatacz wolnych rodników, które powstają podczas promieniowania UV [5].

Z wiekiem zawartość tego polimeru i innych GAGs jest coraz mniejsze, czego wynikiem jest gorsze uwodnienie, a w konsekwencji prowadzi to do powstania zmarszczek i bruzd. Spadek HA powoduje zmniejszenie objętości substancji pozakomórkowej oraz lepkości. Natomiast w osoczu krwi wzrasta stężenie tego składnika w wyniku modyfikacji metabolizmu tego związku. Proces starzenia powoduje obniżenie intensywności biosyntezy hialuronianu w fibroblastach ludzkiej skóry i nasilenie procesu degradacji [5, 13].

Biologiczna aktywność polimeru zależy od masy cząsteczkowej oraz od efektywności wiązania z receptorami. Efekt działania zależy od wielkości cząsteczek. Wysokocząsteczkowy HA - HMW (*High Molecular Weight*) hamuje angiogenezę, degradację macierzy pozakomórkowej, reakcje zapalne (działanie prozapalne i immunostymulujące). W tkankach może się także gromadzić HA o niskiej masie - LMW (*Low Molecular Weight*) lub jego fragmenty (oligomery), powodując pobudzenie proliferacji komórek, indukcję produkcji cytokin oraz chemokin (udział w procesach zapalnych i degradacji macierzy pozakomórkowej, działanie przeciwwzapalnie i immunosupresyjnie) [5, 13].

Tworzenie pochodnych kwasu hialuronowego polega na modyfikacji chemicznej jednej lub więcej reaktywnych grup, takich jak: hydroksylowa, karboksylowa, acetamidowa obecnych w cząsteczce tego związku. Sieciowanie polega na łączeniu makrocząsteczek wiązaniami chemicznymi i tworzeniu nieograniczonej wielkości cząsteczek. Wyróżnia się dwa typy procedur otrzymania usieciowanego kwasu. Dzięki takim modyfikacjom kwas jest o wiele bardziej lepki, trudniej rozpuszcza się w wodzie, a jego okres półtrwania, na przykład przy podskórnym podawaniu, zostaje wydłużony do kilku, a nawet kilkunastu tygodni [22].

I ZASTOSOWANIE KWASU HIALURONOWEGO W MEDYCYNIE

Głównymi działami medycyny, gdzie stosowany jest kwas hialuronowy, są urologia, chirurgia ogólna i ortopedia [20]. Okazało się, że polimer ten jest skuteczny w leczeniu refluksu pęcherzowo-moczowodowego, który jest schorzeniem bardzo często występującym u dzieci, prowadzącym zazwyczaj do infekcji układu moczowego. Leczenie polega na iniekcji małej ilości kopolimeru kwasu hialuronowego i dekstranomeru w miejsce źle funkcjonującej zastawki pęcherzowo-moczowodowej. Ponadto

badania wykazały, że połączenie HA z siarczanem chondroityny, należącym też do GAGs, może wpłynąć na osoby chore z śródmiąższowym zapaleniem pęcherza moczowego, osób opornych na leczenie zespołu bolesnego pęcherza [41].

Związek ten znalazł zastosowanie w leczeniu zmian spowodowanych stopą cukrzycową, ran pooperacyjnych i pooperacyjnych oraz w iniekcjach przy przewlekłym zapaleniu ścięgna Achillesa [26].

W przypadku choroby zwyrodnieniowej stawów wykazano w doświadczeniach na królikach, że dostawowe wstrzykiwanie polimeru łagodzi ból i poprawia ruchomość stawów, spowodowanym przez nasilenie syntezy proteoglikanów chrząstki szklistej, a zarazem jednoczesnym hamowaniu ich degradacji przez hialuronidazy [18, 26, 42, 43].

Pochodne estrowe mają zastosowanie w inżynierii tkankowej jako matryce dla komórek hodowanych *in vitro*. Ulegając biodegradacji, wspomagają wzrost chondrocytów i różnicują mezenchymalne komórki progenitorowe, które pochodzą ze szpiku kostnego w chondrocycie, oraz osteoblasty, co wspomaga formowanie *de novo* tkanki chrzęstnej i kostnej *in vivo*. Natomiast zastosowanie zestryfikowanego hialuronianu jako cząstki antyadhezyjnej pomaga zapobiegać adhezji mikroorganizmów do soczewek kontaktowych, implantów dentystrycznych oraz cewników, wspomaga także procesy gojenia się w tkankach [41].

Kopolimer może mieć zastosowanie jako stent i przeszczep naczyń. Siarczanowe pochodne mogą naśladować heparynę, a wzrastający stopień siarczanowania zapobiega krzepnięciu krwi. Obiecujące są badania nad zastosowaniem go w inżynierii tkankowej mięśnia sercowego i skóry [20].

W okulistyce stosowane preparaty z pochodnymi HA uzyskały wysoką ocenę w postaci roztworów izo-, jak i hipotonicznych, ze względu na niską cytotoksyczność, wysoki poziom stabilizacji filmu łzowego, dłuższy czas przebywania w przestrzeni przedrogówkowej oraz funkcję ochronną komórek nabłonka rogówki. Pochodne kwasu są dobrze tolerowane i charakteryzują się doskonałym przyleganiem do powierzchni rogówki, wytwarzając na niej powłokę biokompatybilną połączoną z filmem łzowym, powodując zwiększenie się jego ilości w worku spojówkowym. Kwas hialuronowy znalazł zastosowanie przy zespole suchego oka, laserowej chirurgii oka, owrzodzeniach rogówki i przy różnych zmianach powiek, a także jako naturalna substancja nawilżająca w soczewkach kontaktowych (syntetyczne środki nawilżające zmniejszają uczucie suchości w oku) [26, 42]. Składnik ten stosuje się też w chirurgicznym leczeniu zaćmy oraz jaskry. Pełni funkcję ochronną przed wysychaniem oraz zapewnia utrzymanie prawidłowej głębokości przedniej komory oka poprzez pokrycie się nim soczewki wewnątrzgałkowej w trakcie wszczepiania i usuwania soczewki. W czasie przeszczepów rogówki kwas hialuronowy tworzy wyściółkę dla nowo powstającej, powoduje szybsze gojenie się rany oraz zapobiega powstawaniu zrostów [44, 45].

W ginekologii mają zastosowanie preparaty (globulki, kremy) przywracające właściwe funkcje pochwy, przyspieszające regenerację (po porodzie, operacje ginekologiczne, radio- i chemioterapia)

blony śluzowej oraz szyjki macicy, pomagające w suchości pochwy [46, 47]. W ginekologii estetycznej kwas hialuronowy ma zastosowanie przy powiększaniu czy uwypuklaniu punktu G, a także odmłodzeniu okolic intymnych [44].

W neurologii stosuje się niemodyfikowaną formę kwasu, która ma zdolność do indukcji i regenerowania nerwów oraz polepszenia ich funkcjonowania [13]. Pełni także rolę inhibitora wzrostu guza nowotworowego [8, 42].

Z informacji patentowych wynika, że np. wirus opryszczki może być hamowany przez stosowanie kwasu lub jego soli na obszar nabłonka zniszczonego przez ten wirus (może mieć hamujący wpływ na reprodukcję powyżej wymienionego wirusa) [5].

W niektórych przypadkach może zmniejszać toksyczne działanie leków oraz przewidywać spadek ich zużycia w trakcie terapii oraz zwiększać efekt terapeutyczny. Jest polimerem nośnikowym w systemach dostarczania leków DDS (*Drug Deliver System*) [42], m.in. leków nowotworowych [48].

Stosowanie kwasu hialuronowego u chorych na AIDS (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*), u których w wyniku przebiegu stosowanej terapii przeciwwirusowej doszło do zaniku tkanki podskórnej, wykazało uzupełnienie ubytków tej tkanki w 87%. Kwas może także zmniejszyć świąd towarzyszący bliznie przerostowej, a po jego aplikacji po chirurgicznym usunięciu blizny lub keloidu następuje hamowanie powstawania blizn przerostowych. Jak wynika z piśmiennictwa, profilaktyczne stosowanie kremu zawierającego ten polimer przed radioterapią stosowaną w leczeniu raka w obrębie głowy, szyi, piersi i narządów miednicy pozwala zmniejszyć częstość reakcji zapalnych w skórze [20, 49]. W dermatologii preparaty, które zawierają kwas hialuronowy, powodują przyspieszenie cofania się zmian potrądzikowych (plamy, odbarwienia czy nierówności naskórka), gojenia się ran oraz leczenia blizn [50-51]. Jako nowy kierunek uznaje się wykorzystanie tego glikozaaminoglikanu w leczeniu ran pooparzeniowych [52].

I ZASTOSOWANIE KWASU HIALURONOWEGO W KOSMETOLOGII I MEDYCYNIE ESTETYCZNEJ

Obecnie kwas hialuronowy jest najpopularniejszą substancją używaną przez lekarzy dermatologów i medycyny estetycznej do biorewitalizacji, biostymulacji, wygładzania skóry oraz wypełniania zmarszczek czy bruzd, a także do dodawania objętości (leczenie lipoatrofii) poszczególnym częściom twarzy czy ciała.

W kosmetykach pochodne kwasu hialuronowego przy niewielkich stężeniach tworzą na powierzchni skóry film ograniczający w znaczący sposób odparowanie wody oraz chronią skórę przed działaniem niekorzystnych czynników zewnętrznych, w tym także klimatycznych. Składnik ten pełni funkcje promotora przenikania i jest składnikiem ułatwiającym wprowadzenie innych składników [13, 26].

I PRODUKTY KOSMETYCZNE

Kwas hialuronowy oraz jego sól (hialuronian sodu) są składnikami wielu kosmetyków nawilżających, ochronnych i przeciwstarzeniowych. Wykorzystuje się go w preparatach do

pielęgnacji oczu, szyi, maseczkach do twarzy i ciała, tonikach, preparatach przeciw rozstępom i produktach antycellulitowych [13, 26]. W preparatach kosmetycznych stosowany jest w stężeniach do 2% (dopuszczalne stężenie) [53]. Stwierdzono, że zaledwie 0,1% kwasu hialuronowego wpływa na poprawę nawilżenia i elastyczności skóry probantów [54]. Nie przenika w głąb naskórka, lecz pozostaje na powierzchni, z uwagi na dużą masę cząsteczkową, tworząc warstwę ochronną. Poza tym osłania warstwę rogową oraz uczestniczy w tworzeniu barier biologicznych i z tych samych powodów często przy aplikacji hialuronianu korzysta się z liposomów. Niestety kwas hialuronowy nawet wtedy nie osiąga poziomu skóry właściwej, dlatego korzyści z jego zastosowania w kosmetykach dotyczą jedynie powierzchni skóry. W wielu produktach kosmetycznych spełnia funkcję powierzchniowego humektanta (składnika utrzymującego wilgotność w kosmetyku) oraz zabezpieczającego kosmetyk przed wysychaniem. Po stosowaniu preparatów z HA naskórek staje się dobrze nawodniony oraz wygładzony poprzez zmniejszenie się transepidermalnej utraty wody TEWL (*Transepidermal Water Loss*) [10, 13, 20].

I MEDYCYNA ESTETYCZNA

Starzenie to proces, który stopniowo prowadzi do dysfunkcji wszystkich narządów organizmu. Zarówno w procesie starzenia związanego z wiekiem, jak i pod wpływem promieni UV, dochodzi do nasilenia się pogłębiania bruzd i zmarszczek. Przemiany morfologiczne i chemiczne prowadzą do znacznego obniżenia stężenia kwasu znajdującego się w skórze, który wiąże cząsteczki wody. Polimer ten jest bezpieczny, nietoksyczny i niedrażniący [20, 55]. Rzadko uczula lub powoduje odczyn alergiczny. Jest jednym z najmniej immunogennych składników występujących w kosmetykach. Ulega biodegradacji. Jest jednym z najczęściej stosowanych implantów w czasowej redukcji zmarszczek statycznych, modelowaniu ust, korekcji rysów twarzy, fałdów nosowo-wargowych oraz podbródka. Niskie stężenia stosowane są w śródskórnych iniekcjach w zabiegach mezoterapii [10, 20, 55, 56]. Są to drobne nakłucia, które najczęściej wykonywane są na twarzy, szyi i dekolcie, ale także na skórze biustu, dłoniach i innych fragmentach skóry. Stosowane w celu pobudzenia produkcji kolagenu i elastyny oraz poprawy nawilżenia i uwodnienia tkanek [44]. Hialuronian podawany w iniekcji do skóry właściwej ma działanie biorewitalizujące oraz biostymulujące [57-59]. Skóra staje się nawilżona, gładka, sprężysta oraz wyraźnie odmłodzona [5].

Wypełnienie tkanek miękkich wymaga dłuższego podtrzymania w miejscu wstrzyknięcia, ponieważ naturalny kwas hialuronowy jest nietrwały (szybko ulega biodegradacji przez hialuronidazy). Okres egzogennych hialuronianów można wydłużyć przy zachowaniu tej samej biokompatybilności (chemiczne modyfikacje i tworzenie pochodnych (derywatywację) oraz sieciowania (łączenie krzyżowe cząsteczek tego kwasu). Powstają stabilne makrocząsteczki ze znaczną odpornością na enzymatyczną biodegradację i bez zmiany immunogenności. Preparaty

z kwasem hialuronowym zachowują powinowactwo do wody i zwiększają swoją objętość w tkance. Pod względem chemicznym są klasyfikowane jako żele czy hydroksyżele. Pochodne kwasu stosowane przy wypełnieniach w tkance pozostają stabilne, ulegając procesowi powolnej resorpcji na drodze degradacji izowolemicznej, w efekcie następuje utrzymanie uzyskanej dzięki wypełniaczowi objętości tkanki mimo postępującej degradacji. W kategoriach klinicznych jest określany jako implant zachowujący znaczną część swojego wyjściowego rozmiaru do chwili, gdy ulegnie całkowitemu wchłonięciu [13]. W pracy przedstawiono zastosowanie kwasu hialuronowego w medycynie estetycznej (tabela 1) oraz wskazania i przeciwwskazania do stosowania wypełniaczy z kwasem hialuronowym (tabela 2, 3).

Tabela 1 Zastosowanie kwasu hialuronowego w medycynie estetycznej

Modelowanie twarzy preparatami kwasu hialuronowego	Modelowanie ciała preparatami kwasu hialuronowego
rozażnianie cieni pod oczami	usuwanie głębokich zmarszczek szyi
modelowanie okolicy kości jarzmowych	powiększanie i modelowanie piersi
wypełnianie bruzd nosowo-wargowych	powiększanie i modelowanie pośladków
konturowanie i powiększanie ust modelowanie kącików ust	korekcja blizn pooperacyjnych i pourazowych
usuwanie głębokich i powierzchniowych zmarszczek	

Źródło: [60-62]

Tabela 2 Pierwotne wskazania do stosowania wypełniaczy tkankowych z kwasem hialuronowym

Zmarszczki wynikające z procesów starzenia	Zwiększenie objętości
fałdy nosowo-wargowe	podniesienie warg i poprawienie ich konturu
bruzdy w obrębie warg	podkreślenie podbródka i policzków
zmarszczki marionetkowe	korekcja zmarszczek łzowych

Źródło: [4, 14]

Tabela 3 Przeciwwskazania do zabiegów z kwasem hialuronowym

Przeciwwskazania bezwzględne	Przeciwwskazania względne
ciąża i karmienie piersią	przyjmowanie antykoagulantów i niesteroidowych leków przeciwzapalnych na 7 dni przed zabiegiem
implanty w obrębie mięśni, kości, ścięgien i naczyń krwionośnych	dermatozy przebiegające z objawem Koebnera
stany zapalne skóry w miejscu wstrzyknięcia (opryszczka, trądzik)	skłonność do powstawania blizn przerostowych
choroby o podłożu autoimmunologicznym	planowanie aktywności pacjenta w ciągu następnych 72 h
nadwrażliwość na kwas hialuronowy	nierealne oczekiwania pacjenta w zakresie możliwych do uzyskania efektów kosmetycznych po zabiegu

Źródło: [15, 63, 64]

Bardzo rzadko występuje nadwrażliwość na ten składnik. Użycie produktów z kwasem hialuronowym może wiązać się z wystąpieniem opóźnionego rumienia i bolesnych, obrzękniętych grudek (zgłaszano guzki, którym nie towarzyszył ból oraz tkliwość), ale także stwardnienie, obrzęk i powstawanie siniaków [14, 15].

I PREPARATY KWASU HIALURONOWEGO – WYPEŁNIACZE TKANEK MIĘKKICH

Kwas hialuronowy dzięki temu, że jest pozbawiony właściwości immunogennych wyparł konkurencyjny kiedyś wypełniacz – kolagen bydłowy, który był stosowany od 1981 roku. Wymagał on przed zabiegiem wykonania próby polegającej na podskórnym wstrzyknięciu w okolice nieekspozowane, np. w skórę przedramienia, a efekty utrzymywały się krócej niż po iniekcji kwasem hialuronowym. Kwas hialuronowy został po raz pierwszy wyizolowany i oczyszczony w 1962 roku. Dopiero wtedy można go było stosować w medycynie oraz przede wszystkim w okuliście, czego przykładem jest otrzymanie licencji od Agencji ds. Żywności i Leków FDA (*Food and Drug Administration*) dla preparatu Healon. W 1980 roku technologia wiązań krzyżowych została zmodyfikowana w celu zapewnienia większej stabilności i poprawy właściwości lepko-elastycznych. Firma Biomatrix wyprodukowała Hylaform (*Inamed Corporation*) – hylan B, który był pierwszym wypełniaczem zawierającym ten kwas do wprowadzenia do skóry, w Europie został on rozpowszechniony w 1966 roku [4, 13-14]. W 2003 roku firma Medicis Aesthetics Inc Scottsdale AZ wyprodukowała preparat Restylane – pierwszy wypełniacz dopuszczony przez FDA. Jest to wypełniacz, którego skuteczność została potwierdzona badaniami klinicznymi [65]. W następnym roku wprowadzono takie wypełniacze, jak Hylaform, Hylaform Plus i Captique [66].

Na rynku jest obecnych wiele preparatów wypełniających na bazie kwasu hialuronowego. Kryteria, jakie je klasyfikują, obejmują: stężenie, metody pozyskiwania, stopień połączeń krzyżowych (sieciovania) i pochodzenie [4, 13, 14].

I PODSUMOWANIE

Kwas hialuronowy dzięki swoim unikalnym właściwościom jest często stosowany w kosmetykach do pielęgnacji twarzy i ciała. Ze względu na rzadko występujące reakcje alergiczne jest składnikiem bezpiecznym dla szerokiego grona odbiorców. Dzięki wysokiej biogodności kwasu z organizmem ma praktyczne lecznicze zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny. Coraz większą popularność zdobywa w medycynie estetycznej, gdzie jest stosowany do małoinwazyjnych iniekcji podskórnych.

I LITERATURA

- M. Romagnoli, M. Belmontesi: *Hyaluronic acid – based fillers theory and practice*. Clinics in Dermatology, 26(2), 2008, 123-159.
- D. Patkowska, A. Ruszczyk: *Kwas hialuronowy – odkrycie na miarę przełomu tysiącleci*. Arkana Kosmetologii, 11(4), 2010, www.arkanakosmetologii [dostęp z dnia 15.01.2017].
- K. Korzeniowska, M. Pawlaczek: *Kwas hialuronowy – nie tylko kosmetyk*. Farmacja Współczesna, 7, 2014, 72-73.
- G.D. Monheit, K.M Coleman: *Hyaluronic acid fillers*. Dermatology Therapy, 19, 2006, 141-150.
- E. Szpringer: *Nowe możliwości terapii stabilizowanym kwasem hialuronowym – doświadczenia własne*. Dermatologia Estetyczna, 11(1), 2009, 29-36.
- D. Jiang, J. Liang, P.W. Nobel: *Hyaluronan as an immune regulator in human diseases*. Physiol Review, 91(1), 2011, 221-264.
- J. Necas, L. Bartosikova, P. Brauner, J. Kolar: *Hyaluronic acid (hyaluronan): a review*. Veterinarni Medicina, 53(8), 2008, 397-411.
- K. Żurowska: *Kwas hialuronowy natura, zastosowanie i rola w organizmie*. Medycyna Estetyczna i Anti-Aging, 3, 2009, 33-36.
- A. Byra: *Wiecznie młodzi*. Beauty Forum, 2008, 22-25.

10. M. Sikora: **Kwas hialuronowy – nowy nutrikosmetyk**, Uroda i Nauka, 2010, 28-30.
11. P. Andre: **Hyaluronic acid and its use as a "rejuvenation" agent in cosmetic dermatology**, Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery, 23(4), 2004, 218-222.
12. I. Sutherland: **Novel and established applications of microbial polysaccharides**, Trends Biotechnology, 16, 1988, 41-46.
13. M. Jurzak, K. Włodarska, A. Garnarczyk, K. Gójniczek: **Kwas hialuronowy – glikozaminoglikanin o wielokierunkowym działaniu**, Dermatologia Estetyczna, 10(4), 2008, 240-248.
14. G.D. Monheit, K.M. Coleman: **Wypełniacze na bazie kwasu hialuronowego**, Dermatologia i Kosmetologia, 2(6), 2007, 30-38.
15. L. Joel, M.D. Cohen: **Znajomość wypełniaczy – unikanie i leczenie związanych z nimi powikłań**, Dermatologia i Kosmetologia, 3(11), 2008, 34-40.
16. C.S. Ogradowski, C.O. Hokka, M.H. Santana: **Production of hyaluronic acid by Streptococcus**, Applied Biochemistry and Biotechnology, 121-124, 2005, 753-761.
17. <http://biotechnologia.pl/kosmetologia/artykuly/wykorzystanie-kwasu-hialuronowego-w-kosmetyce-czesc-i-593> [dostęp z dnia 29.12.2016].
18. **PubChem Public Chemical Database**, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> [dostęp z dnia 29.12.2016].
19. <http://www.dermservice.com.pl/e-encyklopedia/specjalistyczna/41/n-acetylglukozoz-amina> [dostęp z dnia 29.12.2016].
20. R. Galus, M. Antyszko, P. Włodarski: **Zastosowanie kwasu hialuronowego w medycynie klinicznej**, Polski Merkuriusz Lekarski, 20(119), 2006, 606-608.
21. K. Winsz-Szczotka, K. Komosińska-Vassev, K. Olczyk: **Metabolizm glikozaminoglikanów w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa**, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 60, 2006, 184-191.
22. J. Leach (Baier), C.E. Schmidt: **Hyaluronan**, Encyclopedia of biomaterials and biomedical engineering, Marcel Dekker, 2004, 779-789.
23. A. Olejnik, J. Gościńska, I. Nowak: **Znaczenie kwasu hialuronowego w przemyśle kosmetycznym i medycynie estetycznej**, Chemik, 66(2), 2012, 129-135.
24. R.K. Murry, D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell: **Biochemia Harpera**, Wyd. PZWL, Warszawa 2008, 322-332.
25. J.H. Brekke, K. Hacker: **Hyaluronian as a biomaterial**, The Biomaterial Engineering Series. An Introduction to Biomaterials, CRC Press Taylor&Francis Group, 13, 2006, 219-249.
26. A. Jaszczuk, J. Ostrowska, E. Kleszczewska: **Kwas hialuronowy – jego właściwości oraz wykorzystanie w kosmetyce i medycynie**, Polish Journal of Cosmetology, 12(3), 2009, 185-189.
27. D. Czajkowska, M. Milner-Krawczyk, M. Kazanecka: **Kwas hialuronowy – charakterystyka, otrzymywanie, zastosowanie**, Biotechnology and Food Science, 75(2), 2011, 55-70.
28. N. Volpi, J. Schiller, R. Stern, L. Soltes: **Role, metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan**, Current Medicinal Chemistry, 16(14), 2009, 1718-1745.
29. M. Martini: **Kosmetologia i farmakologia skóry**, Wyd. PZWL, Warszawa 2007, 100-104.
30. N. Itano, K. Kimata: **Mammalian hyaluronan synthases**, IUBMB Life, 54, 2002, 195-199.
31. P.W. Noble: **Hyaluronan and its catabolic products in tissue injury and repair**, Matrix Biology, 21(1), 2002, 25-29.
32. J.H. Brekke, K. Hacker: **Hyaluronian as a biomaterial**, The Biomaterial Engineering Series. An Introduction to Biomaterials, CRC Press Taylor&Francis Group, 13, 2006, 219-249.
33. B.P. Toole, V.C. Hascall: **Hyaluronan and Tumor Growth**, American Journal of Pathology, 161(3), 2002, 745-747.
34. M.R. Ziebell, G.D. Prestwich: **Interactions of peptide mimics of hyaluronic acid with the receptor for hyaluronan mediated motility (RHAMM)**, Journal of Computer-Aided Molecular Design, 18(10), 2004, 597-614.
35. E. Pierzchała: **Nietypowe zastosowanie kwasu hialuronowego w korekcji estetycznej**, Dermatologia Estetyczna, 10(2), 2008, 99-101.
36. R.M. Fink, E. Lengfelder: **Hyaluronic acid degradation by ascorbic acid and influence of iron**, Free Rad Res Comp, 31(1-5), 1987, 85-92.
37. R. Tammi, M. Tammi: **Hyaluronan in the Epidermis**, Glycoforum, Glycoscience, Science of Hyaluronan, 1998, www.glycoforum.gr.jp [dostęp z dnia 29.12.2016].
38. D. Jones: **Volumizing the face with soft tissue fillers**, Clinic in Plastic Surgery, 38(3), 2011, 379-390.
39. V. Nehls, W. Hayen: **Are hyaluronan receptors involved in three-dimensional cell migration**, Histol Histopathol, 15(2), 2002, 629-36.
40. B. Raszeja-Kotelba, E. Neumann, J. Bowszyc: **Kwas hialuronowy i skóra**, Polish Journal of Cosmetology, 1, 2002, 21-25.
41. M. Cervigni, F. Natale, L. Nasta, A. Padoa, R. Lo Voi, D. Porru: **A combined intravesical therapy with hyaluronic acid and chondroitin for refractory painful bladder syndrome/interstitial cystitis**, International of Uroynecology Journal 19(7), 2008, 943-947.
42. I.F. Radaeva, G.A. Kostina: **Use of hyaluronic acid for the treatment of various pathologic states**, Pharmaceutical Chemistry Journal, 32(9), 1998, 492-494.
43. A. Homma, H. Sato, A. Okamachi, T. Emura, T. Ishizawa, T. Kato, T. Matsuura, S. Sato, T. Tamura, Y. Higuchi, T. Watanabe, H. Kitamura, K. Asanuma, T. Yamazaki, M. Ikemi, H. Kitagawa, T. Morikawa, H. Ikeya, K. Maeda, K. Takahashi, K. Nohmi N. Izutani, M. Kanda, R. Suzuki: **Novel hyaluronic acid-methotrexate conjugates for osteoarthritis treatment**, Bioorganic&Medicinal Chemistry, 17(13), 2009, 4647-4656.
44. M. Tazbir, M. Pastuszka, A. Kaszuba: **Kwas hialuronowy jako jedna z alternatyw w zapobieganiu starzenia się skóry**, Acta Clinica et Morphologica, 15(1), 2012, 28-35.
45. L.C. McCann, A. Tomlinson, E.I. Pearce, V. Papa: **Effectiveness of artificial tears in the management of evaporative dry eye**, Cornea, 31(1), 2012, 1-5.
46. J. Markowska, R. Mądry, N. Fischer: **Terapia lokalna pochwy preparatami Vagifem i Cicatridina u kobiet po leczeniu raka szyjki macicy i raka endometrium**, Przeglad Menopausalny, 1, 2007, 13-15.
47. J. Markowska, A. Markowska, R. Mądry: **Ocena skuteczności stosowania Cicatridiny w procesie gojenia i reparacji szyjki macicy, pochwy i krocza – otwarte nierandomizowane badanie kliniczne**, Ginekologia Polska, 9, 2008, 494-498.
48. M.S. Karbownik, J.Z. Nowak: **Hyaluronian w chorobach nowotworowych – patofizjologia i perspektywy farmakoterapii**, Journal of Oncology, 61(4), 2011, 380-395.
49. A. Denton, Y. Tsaparas: **Injectable hyaluronic acid for the correction of HIV-associated facial lipodystrophy**, Otolaryngology Head and Neck Surgery, 136, 2007, 563-567.
50. A. Kopacz: **Kwas hialuronowy – czarodziej nawilżania**, Kosmetyka, 1, 2008, 60-61.
51. P. Olczyk, K. Komosińska-Vassev, K. Winsz-Szczotka, K. Kuźnik-Trocha, K. Olczyk: **Hyaluronian – struktura, metabolizm, funkcje i rola w procesach gojenia ran**, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (online), 62, 2008, 651-659.
52. T.A. Dechert, A.E. Ducale, S.I. Ward, D.R. Yager: **Hyaluronan in human acute and chronic dermal wounds**, Wound Repair Regen, 14(3), 2006, 252-258.
53. L.C. Becker, W.F. Bergfeld, D.V. Belsito, C.D. Klaassen, J.G. Marks, R.C. Shank, T.J. Slaga, P.W. Snyder – Cosmetic Ingredient Review Expert Panel, F.A. Andersen: **Final report of the safety assessment of hyaluronic acid, potassium hyaluronate, and sodium hyaluronate**, International Journal of Toxicology, 28, 2009, 5-67.
54. T. Pavicic, G.G. Gauglitz, P. Lersch, K. Schwach-Abdellaoui, B. Malle, H.C. Korting, M. Farwick: **Efficacy of cream-based novel formulations of hyaluronic acid of different molecular weights in anti-wrinkle treatment**, Journal of Drugs Dermatology, 10(9), 2011, 990-1000.
55. K. Pawełczyk-Pala: **Uwagi na temat wykorzystania kwasu hialuronowego: wskazania i techniki zabiegowe**, Dermatologia Estetyczna, 4(45), 2006, 237-238.
56. P. Andre: **New trends in face rejuvenation by hyaluronic acid injections**, Journal of Cosmetic Dermatology, 7(4), 2008, 251-258.
57. F. Wang, L.A. Garza, S. Kang, J. Varani, J.S. Orringer, G.J. Fisher, J.J. Voorhees: **In vivo stimulation of de novo collagen production caused by cross-linked hyaluronan acid dermal filler injections in photodamaged human skin**, Archives of Dermatology, 143(2), 2007, 155-163.
58. M. Kerscher, J. Bayrhammer, T. Reuther: **Rejuvenating influence of a stabilized hyaluronic acid-based gel of nonanimal origin on facial skin aging**, Dermatologic Surgery, 34(5), 2008, 720-726.
59. M. Iorizzo, M.P. De Padova, A. Tosti: **Biorejuvenation: theory and practice**, Clinics in Dermatology, 26(2), 2008, 177-181.
60. M.S. Doutre, C. Beylot: **Side effect of mesotherapy**, Therapie, 52(2), 1997, 93-96.
61. M. Joźwiak-Bębenista, J.Z. Nowak: **Hyaluronian: charakterystyka i praktyczne zastosowanie w medycynie**, Farmacja Polska, 66(12), 2010, 882-893.
62. W. Placek: **Wypełniacze**, Dermatologia Estetyczna, 3, 2009, 262-264.
63. J. Carrithers, A. Carrithers: **Metody wypełniania tkanek miękkich stosowane w kosmologii**, Wydawnictwo Medyczne Urban&Partner, Wrocław 2006, 35-56.
64. M. Noszczyk: **Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska**, Wyd. PZWL, Warszawa 2010, 299-303.
65. J. Niamtu: **The use of Restylane in cosmetic facial surgery**, Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 64, 2006, 317-325.
66. M.P. Lupo: **Hyaluronic acid fillers in facial rejuvenation**, Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery, 25(3), 2006, 122-126.