

Филлеры на основе стабилизированной гиалуроновой кислоты: уточняем дефиниции

Е.А. Чайковская

кандидат фармацевтических наук, гл. редактор журнала «Инъекционные методы в косметологии» (Москва)

Общаясь с коллегами — врачами, менеджерами компаний, химиками-технологами по поводу инъекционной пластики и филлеров, далеко не всегда удается найти общий язык. И дело зачастую заключается не в разном опыте и убеждениях, а в слишком многоплановой трактовке терминов, описывающих состав и свойства филлеров, в том числе на основе стабилизированной гиалуроновой кислоты (сГК).

Попробуем уточнить терминологию.

Производство стабилизированной гиалуроновой кислоты

Производственный цикл разных компаний начинается с различных стадий: некоторые производители сами налаживают производство ГК путем бактериального синтеза с использованием культур *Str. equi* или *Bac. subtilis*. Большинство же закупает субстанцию нативной ГК с **определенной молекулярной массой** — порядка 0,5–6 млн Да (рис. 1) [1]. Хотя надо сразу уточнить, что называемые производителями конкретные цифры имеют некоторое усредненное значение, что было показано в исследованиях Хабарова и соавт. (табл. 1) [2].

Таблица 1

Характеристика коммерческих препаратов гиалуроновой кислоты [2]				
Страна-производитель	Источник ГК	Молекулярная масса по паспорту, млн Да	Максимальная молекулярная масса, млн Да	Минимальная молекулярная масса, млн Да
Франция	Микробный синтез	2,6	7,2	2,4
Япония		2,8	6,4	2,6
Китай		1,6	5,2	1,7
Швейцария		1,2	4,4	0,9



Рис. 1. Субстанция ГК — полупродукт для получения любого филлера

Таблица 2

Скорость биодеградации гиалуроновой кислоты в синовиальной жидкости [3]		
Происхождение ГК	Молекулярная масса, Да	Период полувыведения, ч
Эндогенная	100 000	10
	6 000 000	13
Экзогенная	13 000 000	16

Нередко приходится слышать утверждение, что чем выше молекулярная масса исходной ГК, тем более устойчив филлер к биодеградации. С этим можно поспорить, поскольку еще Brown с соавт. доказали, что период полудеградации нативной ГК мало зависит от размера молекулы (табл. 2) [3].

Принципиальное значение для пролонгации объемного эффекта от введения филлера имеет **стабилизация ГК** путем образования поперечных связей между линейными молекулами и отдельными участками одной молекулы с помощью «сшивающих» агентов — диглицидилового эфира 1,4-бутандиола (BDDE, подавляющее большинство филлеров), дивинилсульфона (препарат Prevelle Silk) или бискарбодимида (препарат Elevess). Все эти химические соединения имеют свои недостатки и преимущества, однако выполняют одну задачу — изменяют структуру ГК таким образом, что резко повышают устойчивость материала к ферментативной деградации.

Соотношение числа дисахаридных остатков, связанных поперечными связями, к общему их числу (и умноженное на 100%) называется **степенью стабилизации**. Заметим, что не все образованные химические связи являются продуктивными (завершенными), то есть участвующими в связи двух сахаридных остатков. В некоторых случаях стабилизатор «цепляется» за цепочку только с одной стороны, участвуя в **модификации** молекулы (любое изменение химической структуры), но не в ее стабилизации, как мы это понимаем в отношении ГК (такие связи иногда называют незавершенными). При анализе любого продукта степень модификации ГК всегда выше степени стабилизации, обычно практически в 2 раза. Для того чтобы сделать химический процесс стабилизации максимально эффективным, реакцию образования поперечных связей проводят в растворах с определенными концентрацией ГК, уровнем pH, при определенной же температуре и в течение конкретного времени при постоянном перемешивании реакционной среды или даже в твердой фазе [2] — все это составляет ноу-хау компании.

Несвязанный стабилизатор в обязательном порядке удаляют путем многократного промывания субстанции, поскольку его присутствие негативно влияет на биосовместимость филлера с тканями. Уровень свободного стабилизатора строго регламентируется американскими и европейскими стандартами качества препаратов. Надо отметить, что практически во всех препаратах количество несвязанного стабилизатора находится ниже уровня аналитических возможностей метода его определения.

Какова же степень стабилизации ГК в большинстве присутствующих на рынке филлеров? По данным Gold, в разных препаратах она составляет 1–20% [4]. Однако нередко нам приходится слышать, что степень стабилизации ГК составляет 80% и даже выше! Нонсенс? Да нет, просто терминологическая неточность: в данном случае, как правило, имеется в виду, что в препарате присутствует 80% стабилизированной ГК (иногда говорят о ретикулированной) и 20% нативной формы. Представим, что уже при степени стабилизации 1% (как в филлере линейки Restylane) полученная в результате реакции масса ГК в концентрации 20 мг/мл представляет собой достаточно плотный агломерат, по свойствам напоминающий упругое твердое тело (рис. 2). С повышением степени стабилизации плотность и упругость геля только возрастают: что за субстанция получилась бы при степени связывания 70%, даже представить сложно!

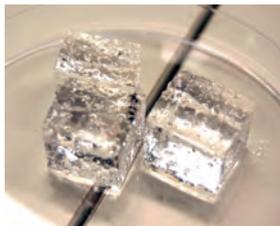


Рис. 2. Стабилизированная поперечными связями ГК представляет собой достаточно плотный гель, напоминающий твердое тело, поскольку он не обладает текучестью

Концентрация ГК влияет на физико-механические свойства геля, кроме того, чем выше концентрация сГК в препарате, тем дольше он сохраняется в месте введения.

Завершая обсуждение вопроса о поперечных связях и стабилизации, ответим на вопрос: действительно ли чем выше степень стабилизации, тем устойчивее филлер к биодеградации? В принципе, да. Однако при достижении определенной критической величины введенный гель начинает распознаваться как инородное тело, и в ответ на его присутствие активируются защитные иммунологические реакции, в том числе и воспалительная. А это означает не только возрастание риска нежелательных явлений, но и ускорение деградации по окислительному пути (окислительная деполимеризация) при участии активных форм кислорода, генерируемых макрофагами при воспалении. Итак, эффективность стабилизации — это вопрос меры.

Концентрация ГК

Концентрация ГК влияет на физико-механические свойства геля, кроме того, чем выше концентрация сГК в препарате, тем дольше он сохраняется в месте введения. Концентрация ГК на уровне около 20 мг/мл является оптимальной. При ее повышении препарат становится более «долгоиграющим», но возрастает **остаточная гигроскопичность** — способность ГК притягивать и удерживать дополнительное количество воды.

Высокая гигроскопичность (степень набухания, в англоязычной литературе — «гидратная емкость») ГК связана с наличием функциональных групп — N-ацетильной и карбоксильной. Дипольные молекулы воды притягиваются и определенным образом ориентируются вокруг этих групп: такая пространственная кластерная структура стабилизируется водородными связями.

С одной стороны, свойство остаточной гигроскопичности позволяет создавать необходимый объем в тканях меньшим количеством препарата, с другой стороны, проведя коррекцию в оптимальном режиме, мы можем спустя несколько дней получить нежелательное явление в виде гиперкоррекции. Этим же явлением объясняются выраженная отечность после процедуры, а также ряд осложнений, связанных с ишемией вследствие компрессии сосудов, которая развивается спустя несколько дней именно при «набухании» введенного микроимплантата [5].

Минимальная остаточная гигроскопичность определяется у препарата Prevelle Silk, в котором концентрация ГК составляет всего 5,4 мг/мл [6].

Еще один фактор, определяющий остаточную гигроскопичность, — степень модификации молекулы: чем она выше, тем больше функциональных групп «закрыто» для образования водородных связей с молекулами воды. Таким образом, и концентрация ГК, и степень ее стабилизации вносят свой вклад.

Среди клиницистов нет однозначного мнения о том, какие препараты являются более гигроскопичными, какие менее: кто-то говорит о большей выраженности этого свойства у препаратов линейки Juvederm [5], избегая вводить такие филлеры в участки лица, проблемные с точки зрения сосудистых осложнений; кто-то отмечает данное свойство у бифазных филлеров, подчеркивая формирование выраженной отечности, особенно в периорбитальной области. При этом препараты Juvederm содержат ГК в более высокой концентрации, а филлеры Restylane имеют меньшую степень модификации (и стабилизации), то есть свои «факторы риска» есть у каждого из них. Возможно, поэтому при использовании филлеров на основе ГК Salti рекомендует проводить субоптимальную коррекцию на уровне 70% необходимой [7], с тем чтобы при повторном визите пациента примерно через 2 недели провести окончательную докоррекцию без риска нежелательных явлений.

Однако и при обсуждении концентрации ГК в составе филлера казусов не избежать: для «судьбы» препарата принципиальное значение имеет содержание стабилизированной ГК, а в состав некоторых продуктов входит до 20% и более нестабилизированной ГК (для придания им оптимальной вязкости и текучести). Нативная ГК подвергается достаточно быстрой ферментативной биодеградации,

и концентрация полисахарида в имплантированном материале снижается. Однако и среди таких препаратов имеются «долгожители» — к ним относится Glytone: по данным клинических исследований, длительность корректирующего эффекта при введении препарата Glytone 3 в область носогубных складок приближается к 18–24 месяцам [8].

Характер частиц: «бифазные» и «монофазные» филлеры

Итак, после проведения процесса стабилизации на выходе производители получают плотный, упругий, но достаточно хрупкий гель ГК, который сам по себе в инъекционной форме представлен быть не может. Поэтому следующая стадия технологического процесса — измельчение материала. От того, как именно будет проведен этот процесс, зависит получение принципиально разных продуктов — «бифазных» или «монофазных» филлеров.

При продавливании геля через сита с определенным размером ячеек получают материал, состоящий из отдельных упругих частиц определенного (например, 100 000 частиц/мл, как в Restylane, или 10 000 частиц/мл, как в Perlane) и, главное, одинакового размера. Для придания материалу пластичности и облегчения прохождения через тонкую инъекционную иглу к нему добавляют некоторое минимальное количество нестабилизированной ГК, что на биологических свойствах конечного продукта никоим образом не сказывается. Так получают бифазные филлеры, классическим примером которых являются препараты линейки Restylane. Название «бифазные», возможно, связано с тем, что на макропрепарате четко видна неоднородность материала, но, скорее всего, с тем, что к стабилизированной ГК целенаправленно добавляют нестабилизированную — «вторую фазу» (рис. 3).

При проведении гомогенизации, условно говоря, в блендере процесс измельчения идет менее контролируемо и на выходе получается продукт, содержащий частицы разного размера (ограничение, как правило, идет по максимальному размеру — крупные частицы могут забивать иглу). Такой материал на макропрепарате (рис. 3) выглядит однородным, гомогенным, поэтому и филлеры получили название «монофазных». В этой группе «классику жанра» представляет линейка Juvederm.

Насколько правомерны названия — монофазные и бифазные препараты, ведь и те, и другие в своем составе имеют две фазы — вязкую жидкость и упругие частицы, то есть по сути все они являются бифазными, и это хорошо видно на микропрепаратах (рис. 4)?

Скорее всего, с точки зрения семантики языка, эти названия неверны. Однако, несмотря на принципиальную схожесть препаратов обеих групп, они различаются по своим биомеханическим свойствам и поведению в тканях. В силу большей однородности частиц и большей упругости бифазные филлеры в целом несколько труднее проходят через иглу, более компактно располагаются в тканях, обладают (возможно) несколько более выраженной лифтинговой способностью. Монофазные препараты легче проходят через иглу, в тканях распределяются

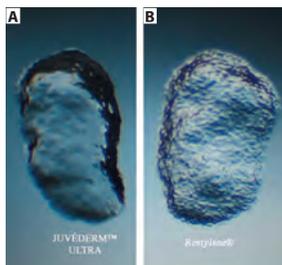


Рис. 3. Макропрепараты монофазного (А — Juvederm Ultra) и бифазного (В — Restylane) филлеров. В первом случае материал кажется гомогенным, во втором — видна его неоднородность, гетерогенность (<http://www.nonsurgicalskincare.com/juvederm-vs-restylane>)

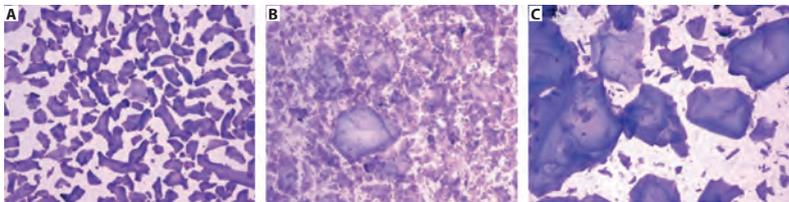


Рис. 4. Микропрепараты бифазного филлера (А — Restylane) и монофазных филлеров (В и С), окраска толуидиновым синим [9]



Рис. 5. Триада основных свойств материалов в составе филлеров на основе ГК

более равномерно и легче моделируются. Некоторые специалисты полагают, что объемный эффект после введения монофазных филлеров выглядит более естественным, хотя и не таким акцентированным, как при использовании бифазных препаратов.

На патогистологических препаратах бифазные филлеры выглядят как островки, «кластеры», раздвигающие ткань, монофазные распределяются в дерме в виде слоистых структур [10]. Для обеспечения более дискретного распределения, возможно, монофазные филлеры следует вводить пунктурной техникой, а не линейным путем.

Клиницисты давно распознали и научились использовать сильные стороны разных препаратов, однако споры о преимуществах филлеров — бифазных и монофазных не затихают. Дискуссия технологов и клиницистов, состоявшаяся в январе 2013 г. на Международном мастер-курсе по старению кожи в Париже (IMCAS-2013), несмотря на жаркие споры, завершилась консенсусом: по мнению участников, определение фазности препаратов следует оставить, но не в приложении к их составу и микроструктуре, а как описание поведения.

Дело в том, что даже частицы в составе филлеров с разной фазностью ведут себя по-разному.

В целом каждый филлер характеризуется суммой основных свойств: эластичности, пластичности и когезивности (рис. 5). **Эластичность (и упругость)** отражает способность держать форму, это свойство твердого тела. **Пластичность** характеризует свойство материала менять форму, что имеет огромное значение при его прохождении через иглу и на этапе моделирования. **Когезивность** — это свойство возвращаться к исходной форме после прекращения действия значительной, но кратковременной нагрузки. Это гарантия того, что филлер при том же моделировании не рассеется по сторонам, импрегнируя окружающие ткани.

Филлеры обладают и еще одним очень интересным свойством — **псевдопластичностью**, характеризующейся временным уменьшением вязкости под действием динамической нагрузки. Это свойство жидкого тела и оно не является исключительной привилегией филлеров: псевдопластичностью обладает кровь со всей совокупностью форменных элементов, что позволяет ей беспрепятственно проходить через самые тонкие капилляры.

Более высокой когезивностью характеризуются монофазные филлеры, высокая эластичность/упругость присущи бифазным препаратам.

Реологические свойства геля в составе препарата отражаются на клинических возможностях

При количественном описании реологических свойств обычно оперируют показателями модуля эластичности (G') и комплексной вязкости (n^*).

Модуль эластичности характеризует сопротивление геля деформации сдвига. Клинически мы говорим о плотности, прочности геля. Этот показатель опреде-

Абсолютно все филлеры, независимо от степени стабилизации и концентрации ГК, а также фазности, гораздо пластичнее самой дермы, модуль эластичности которой примерно равен 3 МПа (Genisson J.L. и соавт., 2004).

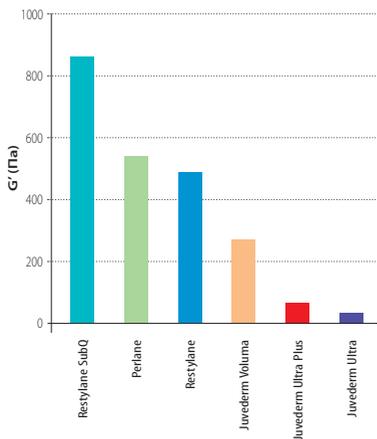


Рис. 6. Показатели модуля эластичности G' некоторых филлеров на основе сГК (измерения проведены при нагрузке 0,7 Па) [11]

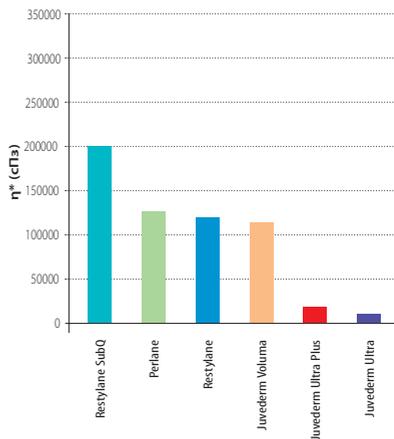


Рис. 7. Показатели комплексной вязкости η^* некоторых филлеров на основе сГК [11]

ляется в специальном устройстве, где образец препарата размещается между горизонтальными пластинками, причем нижняя остается неподвижной, а верхняя смещается в горизонтальном направлении. Пограничное усилие (давление в Па), при котором сопротивление геля резко падает, и определяется как модуль эластичности. Показатель модуля эластичность растет по мере увеличения размера частиц, при повышении концентрации ГК и степени стабилизации (рис. 6) [1, 6, 11]. Непродуктивные связи в молекулах ГК практически не влияют на плотность геля.

Чем выше показатель G' , тем больше сопротивление материала внешней нагрузке, тем больше устойчивость филлера к деформации, например под действием мышечных сокращений. Филлеры с высоким показателем модуля эластичности обеспечивают более выраженную и пролонгированную коррекцию в мимических активных зонах, например в области носогубной складки или морщин «марионетки», латеральной части брови или спинки носа [1, 12]. Однако при этом их продвижение через инъекционную иглу также связано с большим усилием. Препараты с более низким показателем G' имеют преимущества при проведении коррекции статических и поверхностных морщин, подглазничных борозд, а также губ, то есть тех областей, где требуется пластичность геля [1].

Подчеркнем, что клинические характеристики филлеров, например лифтинговая способность, связаны с комплексом физических свойств, в том числе с эластичностью и когезивностью. В одном из исследований показана преимущественная лифтинговая способность монофазного геля с заведомо более низким значением G' по сравнению с бифазным препаратом [13], однако есть и заключения противоположного свойства [14].

Показатель комплексной вязкости (η^*) отражает свойство жидкости сопротивляться течению, в том числе внутри инъекционной иглы. Некоторые данные по филлерам на основе сГК показаны на рис. 7 [11]. Из результатов измерений, представленных на рисунке, следует, что для введения в ткани бифазных филлеров, особенно с крупными частицами, требуется прикладывать значительно большее усилие.

Запатентованная технология HESH, предусматривающая проведение процесса стабилизации в концентрированном растворе ГК с добавлением после измельчения повышенного количества нативной ГК, позволила создать «гибридные» филлеры линейки Yvoire с эластичностью (плотностью) бифазных препаратов и текучестью (пластичностью) монофазных.

«В одну телегу впрячь не можно коня и трепетную лань»?

Гиалуроновые филлеры сегодня многими клиницистами признаются «золотым стандартом» препаратов для инъекционной пластики, несмотря на ограниченный срок действия. И нам открываются все новые свойства этих препаратов, в том числе способность стимулировать синтез коллагена [15]. Однако «идеальными» их называть еще рано, и об этом свидетельствует тенденция создания «гибридных филлеров», то есть объединяющих в себе свойства разных препаратов, например собственно филлера и биоревитализатора. Примерами таких филлеров можно считать:

- препараты линейки Glytone, в состав которых входит 15 или 20% нативной ГК с молекулярной массой 1 и 1,5 млн Да, то есть со свойствами биоревитализатора. Терапевтические свойства нативной ГК в составе препарата доказаны экспериментально-клиническими исследованиями;
- препарат Regenyal Idea Bio-expander, содержащий 10% нативной ГК с молекулярной массой 0,5 млн Да, действие которой направлено на улучшение качества кожи в области введения филлера;
- препарат Ial-System DUO, в состав которого входит 25% эфира ГК (ACP), поддерживающего, по мнению разработчиков, пролиферативные и синтетические процессы, в том числе и в жировой клетчатке.

Можно ли создать филлер, объединяющий преимущества бифазных и монофазных препаратов? Оказывается, можно, и по этому пути пошли создатели линейки филлеров Yvoire (LG Life Science, Ю. Корея).

Препараты Yvoire (Classic и Volume) содержат стабилизированную с помощью BDDE гиалуроновую кислоту с молекулярной массой 3 млн Да (степень стабилизации 1%) в концентрации 22 мг/мл. С целью измельчения препараты продавливают сквозь сита с определенным размером ячеек (400 и 830 мкм), а далее к материалу добавляют 0,87% нестабилизированной ГК, хлорид натрия (изотоничность) и фосфатный буфер для поддержания нейтрального значения pH. Минимальная добавка нативной высокомолекулярной ГК не влияет на выраженную лифтинговую способность бифазного филлера (показатель G' для Yvoire Classic близок к таковому у Restylane), однако существенно облегчает экстракцию препарата через инъекционную иглу, его моделирование в тканях.

Запатентованная технология HESH, предусматривающая проведение процесса стабилизации в концентрированном растворе ГК с добавлением после измельчения повышенного количества нативной ГК, позволила создать «гибридные»

Модуль эластичности G', Па

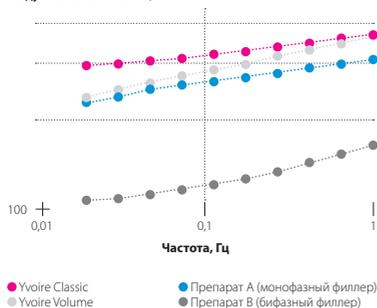


Рис. 8. Динамические показатели модуля эластичности G' для препаратов Yvoire (Classic и Volume) в сравнении с приближенными по свойствам монофазными и бифазными филлерами (исследования компании LG Life Science, регистрационные данные)

Модуль механических потерь G'' (текучесть)

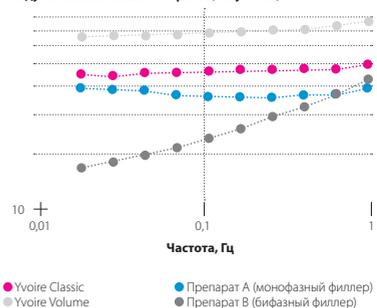


Рис. 9. Динамические показатели модуля механических потерь G'' (текучесть) для препаратов Yvoire (Classic и Volume) в сравнении с приближенными по свойствам монофазными и бифазными филлерами (исследования компании LG Life Science, регистрационные данные)

филлеры линейки Yvoire с эластичностью (плотностью) бифазных препаратов и текучестью (пластичностью) монофазных.

Исследования реологических показателей препаратов Yvoire (Classic и Volume) с приближенным по свойствам монофазным и бифазным филлерам показали, что модуль упругости (показатель лифтинговой способности) у филлеров Yvoire приближены к таковым у классического бифазного филлера, причем вне зависимости от характера (частоты) воздействия (рис. 8).

Текучесть (пластичность) филлеров Yvoire при значительной частоте воздействия сравнивается с показателями монофазного препарата, что свидетельствует о выраженности такого свойства, как псевдопластичность (рис. 9).

По наблюдениям клиницистов, препараты линейки Yvoire «вводятся мягче» по сравнению с классическими бифазными филлерами, в тканях «распределяются равномерно», «создают эффект естественного наполнения», как и при использовании монофазных филлеров.

Таким образом, «гибридизация» физических свойств (именно свойств, а не структуры!) бифазного и монофазного филлеров позволила создать «удобный» для клинической практики препарат.

Заключение

На сегодняшний день филлеры на основе ГК представляют собой «золотой стандарт» в инъекционной пластике. Наличие бифазных и монофазных препаратов, содержащих ГК с различной молекулярной массой, в разной концентрации при варьировании степени стабилизации, дает возможность выбора наиболее эффективного филлера (линейки филлеров) для решения самого широкого круга клинических задач.

В последнее время прослеживается тенденция создания усовершенствованных филлеров с «гибридными» свойствами, включающими различные формы гиалуроновой кислоты.



Литература

1. Kablik J., Monheit G.D., Yu L., Chang G., Gershtovich J. Comparative physical properties of hyaluronic acid dermal fillers. *Dermatol Surg.* 2009; 35, Suppl 1: 302–312.
2. Хабаров В.Н., Бойков П.Я., Селянин М.А. Гиалуроновая кислота. М.: Практическая медицина, 2012.
3. Brown T.J., Laurent U.B., Fraser J.R. Turnover of hyaluronan in synovial joints: elimination of labelled hyaluronan from the knee joint of the rabbit. *Exp Physiol.* 1991; 76 (1): 125–134.
4. Gold M.H. Soft tissue augmentation in dermatology — 2009 update. *J Cutan Aesthet Surg.* 2010; 3: 2–10.
5. Хамфри К.Д., Арюнк Дж.П., Дэйен С.Х. Использование филлеров для коррекции носа. Инъекционные методы в косметологии. 2012, 4: 40–50.
6. Sundaram H. Going with the Flow: An Overview and Clinical Discussion of The Rheology of Soft Tissue Fillers, Part 2. *Practical Dermatology*, 2011; June: 23–28.
7. Салти Д., Темпестини А. Осложнения после применения филлеров в перiorбитальной области. Инъекционные методы в косметологии. 2013, 3: 130–138.
8. Ширшачкова М.А. Филлер с терапевтическим действием. Теоретическое обоснование и практическая реализация концепции. Инъекционные методы в косметологии. 2011; 2: 48–58.
9. What all HA gel fillers are made of. Monophasic Biphasic Semantics. Q-med brochure.
10. Reimmuller J. Hyaluronic Acid Fillers: How Structure Affects Function. In: *Office-Based Cosmetic Procedures and Techniques*. Sorin Eremia Ed. Cambridge Medicine, 2010.
11. Sundaram H., Voigts B., Beer K., Meland M. Comparison of the rheological properties of viscosity and elasticity in two categories of soft tissue fillers: calcium hydroxylapatite and hyaluronic acid. *Dermatol Surg.* 2010; 36, Suppl 3: 1859–1865.
12. Allemann B. I., Baumann L. Hyaluronic acid gel (Juvéderm) preparations in the treatment of facial wrinkles and folds. *Clin Interv Aging.* 2008; 3 (4): 629–634.
13. Borrell M., Leslie D.B., Tezel A. Lift capabilities of hyaluronic acid fillers. *J Cosmet Laser Ther.* 2011; 13 (1): 21–27.
14. Ohrlund A., Edsman K., Stureson C. et al. Lifting capacity of hyaluronic acid (HA) dermal fillers. Presented at: 8th Anti-Aging Medicine World Congress (AMWC); Monte-Carlo, Monaco, 2010.
15. Wang F., Garza L.A., Kang S., Varani J. et al. In vivo stimulation of de novo collagen production caused by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photodamaged human skin. *Arch Dermatol.* 2007; 143 (2): 155–163.