

# **Dermální výplně na bázi kyseliny hyaluronové**

Michaela Sedláčková

---

Bakalářská práce  
2013

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

akademický rok: 2012/2013

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Michaela SEDLÁČKOVÁ**  
Osobní číslo: **T10711**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Dermální výplně na bázi kyseliny hyaluronové**

Zásady pro vypracování:

1. V teoretické části vypracujte literární rešerši na zadané téma.
2. Charakterizujte kyselinu hyaluronovou, popište její strukturu, vlastnosti, výskyt a význam v biologických systémech.
3. Dále se věnujte praktickému využití kyseliny hyaluronové v kosmetice a medicíně.
4. V další části se zaměřte na možnosti využití kyseliny hyaluronové jako injekčně aplikované výplně měkkých tkání obličeje.
5. Provedte průzkum trhu v oblasti injekčních výplní.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. BAUMANN, L. *Cosmetic Dermatology: Principles and Practice*. New York: McGraw Hill Medical, 2009. 366 p. ISBN 978-0-07-149062-7.
2. BAREL, A. O., PAYE, M., MAIBACH, H. I. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. New York: Informa Healthcare, 2009. 869 p. ISBN 978-1-4200-6963-1.
3. ANDRE, P. *Hyaluronic Acid and Its Use as a ?Rejuvenation? Agent in Cosmetic Dermatology*. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*. 2004, 4, p. 218-222.
4. MICHEELS, P., BESSE, S., FLYNN, T. C., SARAŽIN, D., ELBAZ, Y. *Superficial Dermal Injection of Hyaluronic Acid Soft Tissue Fillers: Comparative Ultrasound Study*. *Dermatologic Surgery*. 2012, 38, p. 1162-1169.
5. RZANY, B., CARTIER, H., KESTEMONT, P., TREVIDIC, P., SATTLER, G., KERROUCHE, N., DHUIN, J. CH., MA, Y. M. *Full-Face Rejuvenation Using a Range of Hyaluronic Acid Fillers: Efficacy, Safety, and Patient Satisfaction over 6 months*. *Dermatologic Surgery*. 2012, 38, p. 1153-1161.

Vedoucí bakalářské práce:

**RNDr. Iva Hauerlandová, Ph.D.**

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

**18. února 2013**


Termín odevzdání bakalářské práce:

**24. května 2013**

Ve Zlíně dne 18. února 2013

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



  
doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.  
*ředitel ústavu*



Příjmení a jméno: SEDLAČKOVÁ MICHAELA

Obor: TVT/KD

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 22. 5. 2013

Michela Sedláčková

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) *Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.*

(3) *Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.*

<sup>2)</sup> *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:*

(3) *Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).*

<sup>3)</sup> *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:*

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.*

(2) *Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.*

(3) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělků jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělků dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce pojednává o kyselině hyaluronové jako látce, která nachází své uplatnění v estetické medicíně a je využívána k dermálním výplním. První část se zabývá obecnou charakteristikou kyseliny hyaluronové, její chemickou strukturou, vlastnostmi a metodami pro její získávání. Dále je věnována značná pozornost výskytu kyseliny hyaluronové v organismu, její funkci a účinkům. Další část je zaměřena na dermální výplně na bázi kyseliny hyaluronové. Jsou zde popsány jednotlivé typy a techniky výplní, aspekty důležité při jejich výběru. V závěrečné části práce byl proveden průzkum trhu a srovnání jednotlivých produktů.

Klíčová slova: kyselina hyaluronová, vlastnosti, funkce, dermální výplně

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis deals with hyaluronic acid, which is widely applied in aesthetic medicine, primarily for the purpose of dermal filling procedures. The first part deals with the general characteristics of hyaluronic acid, its chemical structure, properties and production methods. Further the considerable attention is paid to the occurrence of hyaluronic acid in the body, its functions and effects. Another section focuses on dermal fillers based on hyaluronic acid. Within this section, types and technology of fillers and important aspects of their selection are discussed. In the last part of the thesis, the market research and comparison of different products was conducted.

Keywords: hyaluronic acid, properties, functions, dermal fillers

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Ivě Hauerlandové, Ph.D. za vstřícnost, cenné rady a čas, který mi věnovala.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 KYSELINA HYALURONOVÁ</b> .....	<b>12</b>
1.1 CHARAKTERISTIKA KYSELINY HYALURONOVÉ .....	12
1.1.1 Chemická struktura kyseliny hyaluronové.....	13
1.1.2 Chování HA v roztoku .....	14
1.1.3 Chemické modifikace HA.....	15
1.2 ZÍSKÁVÁNÍ HA.....	15
1.3 KYSELINA HYALURONOVÁ V ORGANIZMU.....	16
1.3.1 Metabolismus kyseliny hyaluronové .....	16
1.3.2 Výskyt a funkce kyseliny hyaluronové .....	18
1.3.2.1 Kyselina hyaluronová v kůži .....	20
1.3.2.2 Kyselina hyaluronová v kloubech a synoviální tekutině .....	20
1.3.2.3 Kyselina hyaluronová v extracelulární matrix (extracelulární buněčná hmota, ECM) .....	20
1.3.2.4 Glykokalyx.....	21
1.3.2.5 Intracelulární kyselina hyaluronová.....	21
1.3.2.6 Kyselina hyaluronová v mozku .....	22
1.4 VYUŽITÍ A ÚČINKY KYSELINY HYALURONOVÉ.....	22
1.4.1 Úloha kyseliny hyaluronové při hojení ran a jizev .....	23
1.4.2 Dermální regenerace pomocí kyseliny hyaluronové.....	23
1.4.3 Viskosuplementace .....	23
1.4.4 Oftalmologie .....	24
1.4.5 Kardiovaskulární aplikace.....	25
1.4.6 Otolaryngologie.....	25
1.4.7 Porodnictví a gynekologie.....	25
1.4.8 Kyselina hyaluronová jako prostředek cíleného transportu léčiv .....	25
<b>2 KYSELINA HYALURONOVÁ V ESTETICKÉ MEDICÍNĚ</b> .....	<b>27</b>
2.1 DERMÁLNÍ VÝPLNĚ .....	27
2.2 HISTORIE DERMÁLNÍCH VÝPLNÍ.....	27
2.3 TYPY DERMÁLNÍCH VÝPLNÍ.....	28
2.3.1 Dočasné injekční výplně .....	28
2.3.2 Dlouhotrvající výplně.....	28
2.3.3 Permanentní výplně.....	29
<b>3 DOČASNÉ DERMÁLNÍ VÝPLNĚ ZA POUŽITÍ KYSELINY HYALURONOVÉ</b> .....	<b>30</b>
3.1 ASPEKTY VÝBĚRU HA VÝPLNÍ .....	30
3.1.1 Koncentrace HA.....	30
3.1.2 Síťování HA .....	31
3.1.3 Tvrdost gelu .....	32
3.2 TECHNIKY INJEKČNÍCH VÝPLNÍ KYSELINOU HYALURONOVOU.....	32
3.2.1 Lineární technika retro-aplikace .....	33
3.2.2 Technika sériových vpichů .....	33
3.2.3 Vějířová technika .....	34



3.2.4	Mřížková technika.....	35
3.2.5	Sendvičová technika.....	35
3.2.6	Technika „Perpendicular buttress“ .....	35
3.2.7	Technika „Depot“ .....	35
3.2.8	Technika „Push“ .....	35
3.3	APLIKACE HA PODLE LOKALIZACE V OBLIČEJI.....	36
3.3.1	Horní partie obličeje.....	36
3.3.1.1	Vrásky na čele.....	36
3.3.1.2	Glabelární vrásky.....	36
3.3.1.3	Pokleslé obočí .....	36
3.3.2	Střední partie obličeje .....	37
3.3.2.1	Oblast kolem očí .....	37
3.3.2.2	Nosoretní rýha.....	37
3.3.2.3	Tváře .....	37
3.3.3	Spodní partie obličeje.....	38
3.3.3.1	Zvětšení rtů .....	38
3.3.3.2	Svislé vrásky od koutků úst („Marionette“) .....	38
<b>4</b>	<b>PRŮZKUM TRHU .....</b>	<b>39</b>
4.1	HYLAFORM.....	39
4.1.1	Výhody.....	40
4.1.2	Nevýhody .....	40
4.2	RETYLANE.....	40
4.2.1	Restylane Perlane .....	41
4.2.2	Restylane SubQ.....	41
4.2.3	Výhody.....	42
4.2.4	Nevýhody .....	42
4.3	JUVÉDERM™.....	42
4.3.1	Výhody.....	44
4.3.2	Nevýhody .....	44
4.4	PREVELLE SILK .....	44
4.5	PREVELLE DURA .....	45
4.6	FILORGA.....	45
4.7	SURGIDERM.....	47
4.8	TEOSYAL .....	47
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>49</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>50</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>55</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>56</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>57</b>

## ÚVOD

Kyselina hyaluronová je lineární polysacharid glykosaminoglykan o velké molekulové hmotnosti, který se skládá ze dvou opakujících se disacharidových jednotek. Na základě jejího prostorového uspořádání a velikosti vykazuje jedinečné fyzikální a chemické vlastnosti a má využití v různých odvětvích průmyslu a medicíny. Mezi jednu z nejvýznamnějších vlastností kyseliny hyaluronové patří schopnost vázat a udržovat velké množství vody a zabraňovat jejímu odpařování, proto je kyselina hyaluronová nejčastěji prezentována jako přírodní hydratační látka. Další všeobecně známou vlastností je viskoelasticita, přičemž roztoky kyseliny hyaluronové kombinují viskózní vlastností kapalin a elastické vlastností pevných látek. Při vyšších koncentracích se vyznačují poměrně velkou viskozitou a vytváří gel.

Kyselina hyaluronová je přirozenou součástí pojivových, epitelových a nervových tkání, je také významnou složkou mezibuněčné hmoty. Nachází se i v kůži, kde plní funkci humektantu a reguluje mechanické vlastnosti *stratum corneum*. Značné množství této kyseliny je pak v kloubech a synoviální tekutině, v glykokalyx, pupeční šňůře a v očním sklivci a mozku. Díky její hypoalergenní povaze, biodegradabilitě a biokompatibilitě má široké využití v různých oborech medicíny, nachází uplatnění při hojení ran a jizev, léčbě osteoartrity, kde se podílí především na zlepšení lubrikačních vlastností synoviální tekutiny, je klíčovou makromolekulou v oftalmologické chirurgii, nachází uplatnění také v otolaryngologii a využívá se k cílenému transportu léčiv. Dalším významným odvětvím, ve kterém je kyselina hyaluronová využívána ve velké míře, je kosmetika a estetická medicína. Patří do kategorie dočasných dermálních výplní, což znamená, že časem degraduje a je vstřebávána organizmem. Po aplikaci do kůže zvyšuje schopnost vázat vodu, posiluje pevnost a pružnost pokožky a podporuje tvorbu nových kolagenových a elastických vláken. Preparáty kyseliny hyaluronové jsou používány ke korekci hlubokých i jemných vrásek, atrofických jizev, ztrátových defektů kůže a slouží ke zvětšení objemu a kontur rtů.

Cílem této bakalářské práce je charakterizovat kyselinu hyaluronovou, popsat její strukturu, vlastnosti, výskyt a význam v biologických systémech. Dále je věnována pozornost jejímu praktickému využití v kosmetice a medicíně a využití kyseliny hyaluronové jako injekčně aplikované výplně měkkých tkání. Na závěr je pozornost soustředěna na průzkum trhu v oblasti injekčních výplní.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 KYSELINA HYALURONOVÁ

V roce 1934, Karl Meyer s kolegou Johnem Palmerem izolovali z hovězího sklivce dosud neznámou chemickou látku obsahující dvě různé molekuly cukru, z nichž jedna byla uronová kyselina. Pro usnadnění navrhli název „hyaluronová kyselina“, který je odvozen z řeckého „hyalos“ – sklo, druhá část názvu je odvozena od zmíněné uronové kyseliny. V té době nevěděli, že by tato objevená látka mohla být jednou z nejzajímavějších a nejužitečnějších přírodních makromolekul. Poprvé byla kyselina hyaluronová (hyaluronic acid, HA) komerčně použita v roce 1942, kdy Endre Balazs požádal o patent na její použití jako náhrady vaječného bílku v pekařských výrobcích. První aplikací hyaluronanu v medicíně byla náhrada sklivce v oční chirurgii na konci roku 1950. Používaný hyaluronan byl původně izolován z lidské pupeční šňůry, o něco později z kohoutích hřebínků, byl vysoce čištěný a o vysoké molekulové hmotnosti. Chemická struktura byla popsána Karlem Meyerem a jeho kolegy v roce 1950. Nejprve byla tato látka izolována ve formě kyseliny, ale za fyziologických podmínek se chovala jako sůl (hyaluronát sodný). Termín „hyaluronan“ byl zaveden v roce 1986 v souladu s mezinárodní nomenklaturou polysacharidů a zakladatelem byl Endre Balazs. HA byla následně izolována z mnoha dalších zdrojů s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi a biologické funkce tohoto polysacharidu byly zkoumány v řadě laboratoří [1].

### 1.1 Charakteristika kyseliny hyaluronové

Kyselina hyaluronová (hyaluronic acid, HA), známá také jako hyaluronan nebo hyaluronát, je přirozeně se v přírodě vyskytující polysacharid složený z opakujících se disacharidových jednotek [2]. Molekulová hmotnost HA může dosahovat až hodnot  $10^7$  Da, což zároveň s jedinečným uspořádáním a reologickými vlastnostmi umožňuje HA plnit důležitou roli v živých organizmech a hyaluronan je také atraktivním biomateriálem pro různé lékařské využití [3].

Jednou z nejdůležitějších vlastností HA je schopnost vázat vodu a lubrikovat pohyblivé části těla, jako jsou klouby a svaly. HA je jednou z nejvíce hydrofilních molekul v přírodě a může být označena jako přírodní hydratační látka. Díky své konzistenci a přívětivosti ke tkáním je HA používána v produktech péče o kůži, kde slouží jako vynikající hydratant [1]. Ve tkáních je důležitá jako objemový materiál pro udržení vodní homeostáze, reguluje propustnost jiných látek prostřednictvím vytvoření sterické zábrany a poskytuje lubrikaci.

Schopnost kyseliny hyaluronové vázat značné množství vody je demonstrována na obrázku 1.

Kyselina hyaluronová je významnou komponentou mezibuněčných hmot, vyskytuje se v pojivových tkáních a epitelech. Značné množství HA obsahuje kůže, synoviální tekutina nebo oční sklivec. Vyskytuje se také v pupeční šňůře, v plicích, ledvinách, mozku a svalové tkáni [1]. Díky specifické vazbě na povrch buněk a na proteiny extracelulárních hmot se HA aktivně podílí na buněčné signalizaci. Tyto interakce mezi proteinem a ligandem stabilizují matrix chrupavky a zprostředkovávají signalizační kaskády například pro pohyblivost buněk, buněčnou proliferaci, morfogenezi a embryonální vývoj [4].

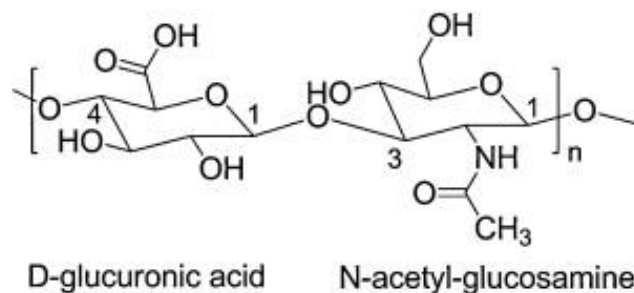


Obrázek 1: List kyseliny hyaluronové, na jehož jeden konec byla aplikována voda [5]

### 1.1.1 Chemická struktura kyseliny hyaluronové

Kyselina hyaluronová je poměrně jednoduchý neesterifikovaný glykosaminoglykan skládající se ze stovek až tisíců disacharidových jednotek tvořených z N-acetylglukosaminu a kyseliny glukuronové, které jsou propojeny  $\beta(1,4)$  a  $\beta(1,3)$  glykosidickou vazbou. Za fyziologických podmínek je HA ve formě sodné soli, a proto má záporný náboj a je označována jako hyaluronát sodný. Za těchto podmínek je HA velmi hydrofilní a je obklopena molekulami vody vázanými vodíkovými vazbami. Chemická struktura kyseliny hyaluronové je znázorněna na obrázku 2.





Obrázek 2: Chemická struktura kyseliny hyaluronové [6]

Kyselina glukuronová i N-acetylglukosamin jsou odvozeny od glukózy, která v  $\beta$  konfiguraci umožňuje všem objemnějším skupinám (hydroxylové, karboxylové skupiny a anomer-ní uhlík na přilehlém cukru) být ve stericky příznivých pozicích, zatímco vodíkové atomy zaujímají méně stericky příznivé axiální polohy. Struktura disacharidu je tedy velmi energeticky stabilní [1].

Jak již bylo zmíněno výše, kyselina hyaluronová patří mezi glykosaminoglykany (GAG). GAG jsou heteropolysacharidy složené z podjednotek tvořených aminocukrem (N-acetylglukosamin) a uronovou kyselinou (kyselina glukuronová, kyselina induronová). Glykosaminoglykany, ať už volné nebo jako součást proteoglykanů, představují důležitou součást extracelulární matrix. Kromě kyseliny hyaluronové patří mezi GAG i chondroitin-sulfát, keratansulfát, dermatansulfát nebo heparasulfát. Na rozdíl od většiny GAG kyselina hyaluronová není esterifikována kyselinou sírovou a její struktura je jednodušší [3,7,8].

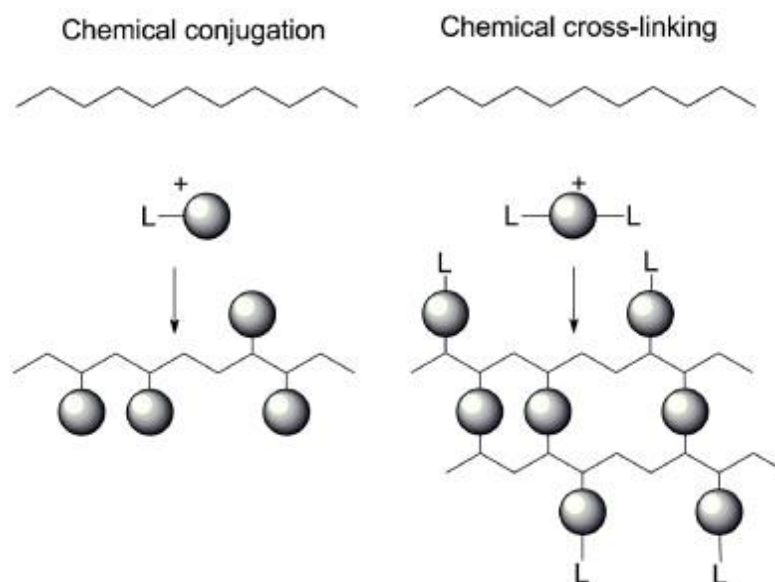
### 1.1.2 Chování HA v roztoku

Ve fyziologickém roztoku je řetězec molekuly hyaluronanu zpevněn prostřednictvím chemické struktury disacharidu, vnitřních vodíkových vazeb a interakcí s rozpouštědlem. Axiální atomy uhlíku mají nepolární, relativně hydrofobní charakter, zatímco ekvatoriální postranní řetězce jsou polárnějšího, hydrofilnějšího charakteru. Tím dochází k vytvoření kompaktní struktury. Roztoky hyaluronanu jsou vysoce hydrofilní, vykazují neobvyklé reologické vlastnosti a mají mimořádné lubrikační účinky. Polymerní řetězce hyaluronanu zaujímají v roztoku helikální konformaci. Tyto řetězce se vzájemně spojují při velmi nízkých koncentracích, což přispívá k neobvyklým reologickým vlastnostem. Při vyšších koncentracích mají roztoky extrémně vysokou, ale na smykové rychlosti závislou viskozitu. 1% roztok vypadá jako gel, ale je-li vystaven tlaku, pohybuje se snadno a může být aplikován i velmi tenkou injekční jehlou, proto je označován za pseudoplastický materiál. Je dokázáno, že hyaluronan odděluje většinu tkáňových povrchů, které se po sobě navzájem

posouvají. Jak bylo uvedeno výše, polymer má v roztoku konfiguraci kompaktní šroubovice, která může být připojena k vodíkovým vazbám mezi hydroxylovými skupinami v řetězci. Díky této struktuře je HA schopna vázat velké množství vody, dokonce až tisíckrát větší množství než je vlastní hmotnost hyaluronanu [1].

### 1.1.3 Chemické modifikace HA

HA může být chemicky upravena dvěma různými způsoby: zesíťováním nebo konjugací. Na strukturu konjugovaných a zesíťovaných polymerů poukazuje obrázek 3. Obě varianty jsou založeny na stejné chemické reakci a jedinou odlišností je, že v prvním případě je sloučenina navázána na jeden HA řetězec jednou vazbou, kdežto ve druhém případě jsou odlišné HA řetězce spojeny dvěma nebo více vazbami.



Obrázek 3: Konjugované a zesíťované polymery [6]

Existují různé typy síťování: přímé síťování, síťování HA derivátů a síťování různých HA derivátů. Chemická modifikace HA může být provedena na dvou možných funkčních místech HA a to na karboxylové a hydroxylové skupině. Pro síťování nebo konjugaci HA existuje řada metod. Některé metody vyžadují přítomnost vody, ostatní je třeba provádět v organických rozpouštědlech, protože molekula je citlivá na hydrolýzu.

## 1.2 Získávání HA

Dříve byla HA získávána z hovězího sklívce, dnes je jednou z možností získávání HA izolace z kohoutích hřebínků a lidské pupeční šňůry, přičemž se provede jejich zmrazení z důvodu rozrušení buněčných stěn, následně dojde k rozřezání na kousky a k extrakci eta-

nolem s přidavkem cetylpyridinium chloridu, chloroformu a vody. Získaný produkt je nutné dále čistit a také upravit jeho pH.

Pokroky v biotechnologii vedly k vývoji geneticky modifikovaných bakterií produkujících vysoké výnosy HA a dnes je většina komerčních produktů získávána tímto způsobem s využitím geneticky upravených bakterií *Streptococcus equi* (Restylane®, Juvederm®), *Streptococcus zoopidemicus* a *Streptococcus pneumoniae*. Výhodou produktů získaných pomocí biotechnologií je především vyloučení rizika kontaminace zvířecími patogeny a snížení rizika vzniku alergických reakcí, což nelze vyloučit při izolaci z hovězího sklivce nebo kohoutích hřebínků. Kultivace těchto bakterií je prováděna v roztocích glukózy obsahujících kvasničný extrakt a soli. Velmi důležitá je důkladně provedená purifikace získané HA a eliminace bílkovin.

Snahy jsou stále více zaměřovány na produkci bakteriální HA za použití vysoce výnosných a méně nákladných metod s efektivními technikami úpravy. Další přístup k získání HA oligosacharidů dané délky je jejich produkce chemoenzymatickou syntézou. Tato metoda vedla ke komercializaci monodisperzních oligomerů HA pod názvem Select-HA™ (Hyalose LLC) s nízkými hodnotami indexu polydisperzity [6,9].

Dále lze HA získat enzymatickou syntézou prostřednictvím enzymu hyaluronansyntázy.

V dnešní době také roste zájem o síťované deriváty kyseliny hyaluronové, tzv. hylany, jejichž roztoky a gely jsou charakteristické velkou elasticitou. Jsou získávány prostřednictvím reakce vinyl sulfonu s hydroxylovými skupinami HA, přičemž dojde ke vzniku síťování, které zprostředkovávají sulfonyl-bis-etylové příčné vazby. Další cestou vedoucí k výrobě hylanu je vytvoření stálých vazeb mezi C-OH skupinami polysacharidu nebo amino (imino) skupinami proteinu za použití formaldehydu.

### **1.3 Kyselina hyaluronová v organismu**

#### **1.3.1 Metabolismus kyseliny hyaluronové**

##### **1. Syntéza**

Kyselina hyaluronová je v organismu syntetizována fibroblasty a dalšími specializovanými buňkami pojivové tkáně [10]. Buněčná syntéza HA je jedinečný a složitě regulovaný proces. Většina glykosaminoglykanů je syntetizována pomocí enzymů nazývajících se hyaluronan syntázy. Jedná se o integrální membránové proteiny, které se u obratlovců vyskytují ve třech formách: HAS1, HAS2 a HAS3. Integrální (transmembránové) proteiny prochází

skrz celou cytoplazmatickou membránu a jsou tak spojeny s prostory na obou stranách membrány (cytosol a extracelulární prostor). Oproti tomu periferní membránové proteiny jsou asociovány pouze s jednou stranou membrány, tedy buď s vnitřní cytosolovou nebo s vnější extracelulární [11]. Enzym hyaluronansyntáza vytváří dlouhé, lineární polymery opakujících se disacharidových jednotek hyaluronanu. Při syntéze je do rostoucího řetězce střídavě připojována kyselina glukuronová a N-acetylglukosamin, přičemž substrátem pro tuto syntézu jsou aktivované sacharidy s navázaným uridindifosfátem (UDP-glukuronová kyselina a UDP-N-acetylglukosamin).

## 2. Degradace HA

U savců je enzymatická degradace HA výsledkem činnosti tří typů enzymů: hyaluronidázy,  $\beta$ -D-glukuronidázy a  $\beta$ -N-acetyl-hexosaminidázy. V celém těle se tyto enzymy nachází v různých formách, mohou být intracelulárně v buňkách nebo je nacházíme extracelulárně v séru. Obecně lze říci, že hyaluronidáza štěpí HA s vysokou molekulovou hmotností na menší oligosacharidy, zatímco  $\beta$ -D-glukuronidáza a  $\beta$ -N-acetyl-hexosaminidáza dále rozkládá oligosacharidové fragmenty odstraněním neredukujících terminálních cukrů. Degradční produkty hyaluronanu, oligosacharidy a hyaluronan s velmi malou molekulovou hmotností vykazují pro-angiogenní vlastnosti, tedy podporují proces vzniku krevních kapilár [12].

Kyselina hyaluronová je důležitou složkou mezibuněčných hmot. Štěpením HA pomocí enzymu hyaluronidázy se snižuje viskozita HA, což vede ke zvýšení tkáňové permeability. Proto je hyaluronidáza v medicíně používána pro usnadnění transportu léčiv do tkání. Nejběžnějším využitím hyaluronidázy je aplikace v oční chirurgii, kde se používá v kombinaci s lokálními anestetiky pro zlepšení prostupnosti anestetik do tkáně. Enzymatické štěpení HA využívají i některé bakterie, jako je *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* a *Clostridium perfringens*. Tyto mikroorganizmy produkují hyaluronidázu jako prostředek pro zvýšení své vlastní mobility při průchodu tělními tkáněmi. Tento systém jim navíc poskytuje jakési antigenní maskování, které brání jejich rozpoznání fagocyty imunitního systému [1].

Chrupavka dospělých jedinců je avaskulární (bezcévná) a je vyživována difúzí živin ze synoviální tekutiny. Přísun živin pro chrupavku, jakož i odstraňování odpadních látek, je tedy zcela závislé na synoviální tekutině. Degradovaná kyselina hyaluronová z chrupavky

je nejdříve uvolněna do synoviální tekutiny, odkud vstupuje do lymfatického toku přes vysoce vaskularizovanou synoviální membránu.

Fragmenty HA s nízkou molekulovou hmotností vstupují do krevního oběhu, odkud je většina z nich odstraněna a na závěr degradována endoteliálními buňkami jater. Minoritní část (asi 10 %) je metabolizována ledvinami a slezinou.

Poločas rozpadu HA ve tkáních se liší pro různé tkáně a je odlišný u různých živočišných druhů. V kůži se HA rozkládá během jednoho dne, molekuly HA v chrupavkách mají životnost 2 – 3 týdny [12]. Sérologický poločas rozpadu HA je asi 2 – 5 minut. U normálního dospělého člověka se sérologická hladina HA pohybuje mezi 10 a 100  $\mu\text{g/l}$  a celkový obrat HA v séru se pohybuje v rozmezí 10 – 100 mg/24 hodin [13].

### 1.3.2 Výskyt a funkce kyseliny hyaluronové

Kyselina hyaluronová představuje jednu z nejdůležitějších složek extracelulárních hmot. V lidském těle je nejvíce HA v synoviální tekutině, pupeční šňůře a ve sklivci [3]. HA se vyskytuje v organismu v mnoha odlišných formách, a to jako volně cirkulující, nebo vázaná elektrostatickými a kovalentními vazbami k dalším molekulám matrix. Rozmanité funkce HA v organismu jsou regulovány prostřednictvím interakcí se skupinou proteinů, které mají specifickou afinitu k HA. Tyto proteiny se obecně označují jako hyaladheriny a jejich interakce s HA zajišťují stabilitu a integritu extracelulární matrix a podílí se i na celé řadě specifických funkcí [1,14]. Představuje hlavní část glykokalyx, který obklopuje všechny buňky. HA může být vázána na povrch buněk některým z mnoha membránových receptorů. Nedávný důkaz vypovídá o tom, že se HA vyskytuje také uvnitř buněk [15]. Téměř polovina HA v těle se nachází v kůži s největším zastoupením v intracelulárním prostoru, kde jí může být až 2,5 g/l. Bohužel má HA poločas rozpadu kratší než 3 dny, v kůži dokonce 1 den, proto je nutné, aby tělo neustále HA doplňovalo. Změny v HA jsou pozorovány při stárnutí, hojení ran a degenerativních onemocnění [3,16]. Přehled koncentrace HA v živočišných tkáních a tekutinách je zaznamenan v tabulce 1.

HA má také spoustu dalších funkcí. Hraje roli prostorové výplně, je filtrem iontové výměny, médiem pro hydrataci, promotorem buněčné migrace, klíčem k embryonálnímu vývoji, podílí se na obnově tkání a regeneraci. Molekuly HA mají i další velmi specifické funkce, jako je účast na zánětlivé odpovědi imunitního systému, angiogeneze, podpora hojení ran a indukce tvorby proteinů tepelného šoku [15].



Výskyt HA není typický pouze pro obratlovce. Kyselina hyaluronová je součástí pouzder některých bakterií, například některých kmenů streptokoků. Na druhou stranu se HA nevyskytuje u hub, rostlin a nesetkáme se s ní ani u hmyzu [15].

Tabulka 1: Koncentrace HA v živočišných tkáních a tekutinách [9,15,21]

Tkáň nebo tělesná tekutina	Koncentrace [μg/ml]	Poznámky
Kohoutí hřebínek	7500	živočišná tkáň s nejvyšším obsahem HA
Lidská pupeční šňůra	4100	tkáň s relativně vysokou molekulovou hmotností HA
Synoviální tekutina	1400–3600	při zánětech dochází k poklesu koncentrace HA vlivem zvětšování objemu synoviální tekutiny
Oční sklivec	140–340	při zrání tkáně dochází ke zvyšování koncentrace
Dermis	200–500	—
Epidermis	100	koncentrace je vyšší kolem syntetizovaných buněk
Mozek	35–115	—
Torakální mícha	8,5–18	—
Lidská hrudní míza	0,2–50	Malá molární hmotnost HA je vysvětlena přednostní absorpcí větších molekul buňkami jater
Komorová voda	0,3–2,2	—
Lidská moč	0,1–0,3	je zdrojem enzymu <i>hyaluronidázy</i>
Cerebrospinální tekutina	0,02–0,32	—
Plazma	0,01–0,1	u starších lidí, pacientů s artritidou nebo cirhózou jater je koncentrace HA vyšší

### 1.3.2.1 Kyselina hyaluronová v kůži

HA je součástí NMF (Natural Moisturizing Factor) a nachází se v rohové vrstvě (*stratum corneum*, SC), kde plní nejen funkci humektantu, ale také interaguje s intercelulárními lipidy a reguluje mechanické vlastnosti SC.

NMF jsou hydrofilní látky tvořící v SC asi 20 – 30 % sušiny a vyskytují se intracelulárně i extracelulárně (například cukry, kyselina hyaluronová, močovina a laktát). Do intracelulárního NMF přispívají hlavně základní aminokyseliny a jejich deriváty, jako je pyrrolidon karboxylová a urokanová kyselina tvořící až 50 % hmotnosti celého NMF. Koncentrace NMF se mění v závislosti na věku a hloubce kůže.

HA může udržet vodu ve tkáních a tím změnit dermální objem a stlačitelnost. V kůži tvoří hlavní ochrannou bariéru mezi podkožními tkáněmi a nepříznivým působením prostředí, má úlohu „čističe“ volných radikálů generovaných UV zářením ze slunce. Ultrafialové záření způsobuje oxidační procesy na buňkách a může poškodit jejich genetický materiál, což by mohlo způsobit degeneraci a smrt [3,17].

### 1.3.2.2 Kyselina hyaluronová v kloubech a synoviální tekutině

HA se nachází ve všech kostech a chrupavčitých strukturách v celém těle. V synoviální tekutině poskytují vysoké koncentrace HA o vysoké molekulové hmotnosti lubrikaci pro klouby a slouží jako tlumič snižující tření hýbajících se kostí a zmenšující opotřebení kloubů. Při zánětlivých stavech u artritických onemocnění je HA rozkládána reaktivními sloučeninami kyslíku, které snižují její viskozitu a poškozují lubrikační a tlumivé vlastnosti, což vede ke zhoršené pohyblivosti kloubů a bolestivosti. Koncentrace HA se liší podle věku. V synoviální tekutině kolenního kloubu je koncentrace HA nejvyšší mezi 18 a 25 rokem, poté se snižuje [16,18].

### 1.3.2.3 Kyselina hyaluronová v extracelulární matrix (extracelulární buněčná hmota, ECM)

HA hraje v ECM několik důležitých rolí díky schopnosti interakce s buňkami a jinými komponentami prostřednictvím specifických a nespecifických interakcí. Hyaluronan-vazebné proteiny (hyaladheriny) jsou součástí extracelulární hmoty a stabilizují její integritu. Receptory pro hyaluronan se podílí na buněčné signální transdukci. Mezi tyto receptory patří například protein agrekan, versican a neurocan a receptory CD44, TSG6, GHAP, LYVE-1. Pozornost je upřena především na receptor CD44. Jedná se o strukturně variabil-

ní multifunkční glykoprotein vyskytující se na buněčném povrchu, který je exprimován ve většině buněk. V současné době je to nejlépe charakterizovaný transmembránový receptor hyaluronanu. Kvůli jeho širokému rozšíření a expresi v rozmanitých buňkách je považován za hlavní receptor hyaluronanu. Receptor CD44 je protein s mnoha funkcemi, z nichž je nemalá část zprostředkována právě přes interakce s jeho ligandem, tedy kyselinou hyaluronovou. Změny v expresi tohoto vazebného proteinu jsou spojovány s celou řadou nádorových onemocnění, což je hlavní příčina intenzivního zájmu o tento receptor kyseliny hyaluronové. Zdá se, že zvýšená exprese CD44 podporuje vazbu HA, což u některých experimentálních tumorů souvisí s vyšší tendencí k tvorbě metastáz [1,19].

#### ***1.3.2.4 Glykokalyx***

Glykokalyx je mezibuněčná hmota obklopující všechny buňky. Přiléhá těsně k povrchu cytoplazmatické membrány a odděluje ji od obecné extracelulární hmoty (ECM). Má nepravidelně vláknitou ultrastrukturu a obsahuje HA a heparan sulfát. V glykokalyx se koncentrují různé růstové faktory a extracelulární molekuly nutné pro buněčnou signalizaci a mezibuněčnou komunikaci. Tato struktura obsahuje mechanoreceptory a funguje jako jakési makromolekulární síť. Velmi rozvinutý glykokalyx se nachází na apikálním povrchu endoteliálních buněk, které zasahují do cévní stěny. Glykokalyx se zřejmě podílí na tvorbě bariér v organismu (hematoencefalitická bariéra, ledvinová glomerulární bariéra), přičemž jim uděluje patřičnou selektivitu a permeabilitu a může také řídit mikrocirkulaci [15].

#### ***1.3.2.5 Intracelulární kyselina hyaluronová***

Jako již bylo zmíněno výše, hyaluronan není pouze součástí extracelulární hmoty, ale nalézá se i intracelulárně. Přestože je lokalizace HA uvnitř buněk dobře popsána, funkce tohoto materiálu jsou stále nejasné. Vyskytuje se nejen v cytoplazmě, ale také v jádře a jadérku. Pravděpodobně se zde podílí na regulaci buněčného cyklu a na modulaci řízení specifických kináz, čímž ovlivňuje buněčné procesy a chování. Další zvláštní formy HA jsou jakási stresová vlákna, která se podílí na zánětlivých reakcích. Tyto zvláštní formy HA bývají spojovány se zánětlivými střevními onemocněními, včetně Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy [15].

### 1.3.2.6 Kyselina hyaluronová v mozku

ECM mozkové tkáně dospělých jedinců má jedinečné složení. Nápadným rysem matrix mozkové tkáně je přítomnost lektikanů (rodina proteoglykanů na bázi chondroitin sulfátu, zahrnující agrekan, verzikan, neurokan a brevikan), které obsahují lektinovou doménu a doménu pro vazbu HA [15]. Prostřednictvím těchto domén lektikany interagují s uhlovodíky a proteiny ECM a zprostředkovávají tak spojení různých molekul, které mezibuněčnou hmotu tvoří [20]. Proteiny matrix společné pro ostatní tkáně jsou v dospělém mozku téměř nepřítomny. Zdá se, že mozková ECM má trofický efekt na neurální buňky a ovlivňuje vývoj neuritů [15].

## 1.4 Využití a účinky kyseliny hyaluronové

HA je využívána v různých oborech medicíny. Je hypoalergenní a je vyráběna v různých formách, přes gely, tuby, pláty pevných materiálů, až po jemně tkané mřížky. HA a její deriváty mají abnormální potenciál medicínských aplikací. Jejich využití je možné ve tkáňovém inženýrství, při transportu léčiv do tkání, dále lze těžit ze schopnosti HA posílit angiogenezi. Další oblastí použití HA je hojení ran. V neposlední řadě je možné zmínit aplikaci HA jako strukturální podpory a materiálu pro augmentaci a viskosuplementaci. Výše zmíněné oblasti využití těží z unikátních vlastností hyaluronanu a jeho derivátů. HA je biodegradabilní, biokompatibilní a má jak podpurný, tak hydratační efekt.

Kyselinu hyaluronovou lze využít k následujícím účelům:

- k ochraně jemných tkání, jako výplňový materiál při chirurgických zákrocích v oftalmologické chirurgii
- k vyplnění a zvětšení tkáňových prostorů v kůži, svalech, hlasových a hltanových tkáních (tzv. viskoaugmentace)
- k oddělení povrchů pojivových tkání traumatizovaných chirurgickými zákroky nebo poraněním, s cílem zabránit nadměrné tvorbě jizev (tzv. viskoseparace)
- k náhradě nebo doplnění tkáňových tekutin, například jako náhrada synoviální tekutiny při bolestivé artritidě a ke zmírnění bolesti (tzv. viskosuplementace)
- k ochraně zdravých nebo poraněných povrchů tkání před nadměrným vysoušením nebo škodlivými vlivy zevního prostředí, pro podporu hojení takových povrchů [15]

### 1.4.1 Úloha kyseliny hyaluronové při hojení ran a jizev

Hypertrofické a keloidní jizvy lze definovat jako odchylky od běžného hojení ran, při kterých dochází k vystoupení jizvy nad kožní povrch v důsledku nadměrného množství fibrózní tkáně. Příčinou tvorby hypertrofických jizev je zvýšená tvorba kolagenu, zejména kolagenu I a III, který není degradován, a jizva roste ve všech směrech [22]. Kolagen produkovaný fibroblasty je tedy jedním z klíčových faktorů v obnově podpůrné matrix v místě poranění a právě kolagen do značné míry určuje konečnou povahu a vzhled jizev.

Při enzymatickém štěpení kyseliny hyaluronové vznikají kratší fragmenty o různém počtu dimerních podjednotek. Tyto degradační produkty hrají důležitou roli při procesu hojení ran a při tvorbě jizev. Fragmenty HA s dlouhým řetězcem stimulují proliferaci fibroblastů a v místě jizvy snižují celkovou produkci kolagenu v těchto buňkách. Paradoxem je, že aplikace hyaluronidázy, tedy enzymu díky kterému fragmenty vznikají, zjizvení spíše zhoršuje, zatímco trvale zvýšená hladina HA snižuje kontrakci fibroblastů, čímž podporuje regeneraci tkáně [23].

### 1.4.2 Dermální regenerace pomocí kyseliny hyaluronové

Aplikace exogenní HA zvyšuje proliferaci keratinocytů. Migrace rohových buněk je zvyšována přidávkem HA, efekt je dán účinkem vzájemného působení fibronektinu a endoteliálního růstového faktoru (EGF).

### 1.4.3 Viskosuplementace

Jde o novou, bezpečnou a efektivní formu místní léčby osteoartritidy pomocí HA produktů. Nitrokloubní aplikace HA napomáhá znovunastolení normálních fyziologických podmínek v synoviální tekutině a obnovení jejích viskoelastických vlastností, které umožňují regeneraci tkání a správnou funkci kloubu. Hlavními funkcemi HA při viskosuplementaci je tlumení nárazů a lubrikace synoviálních kloubů. Důvodem pro použití viskosuplementace je snížení bolestivosti, zlepšení pohyblivosti pomocí obnovení transsynoviálního toku a v neposlední řadě nastolení metabolické a reologické homeostáze kloubu. Za terapeutický účinek HA při osteoartritidě mohou zodpovídat čtyři mechanismy:

1. Úprava viskoelastických vlastností synoviální tekutiny.
2. Stimulační účinky exogenní HA na biosyntetické pochody v buňkách – aplikovaná HA může vyvolat endogenní syntézu HA synoviálními buňkami, stimulovat proliferaci chondrocytů (hlavních buněk vyskytujících se v chrupavce, vznikajících z



mezenchymálních chondroblastů a produkujících mezibuněčnou hmotu) a zabránit degeneraci chrupavky.

3. Protizánětlivé působení HA – při léčbě dojde ke snížení počtu zánětlivých buněk v synoviální tekutině, modulaci exprese cytokinů a k redukci počtu volných kyslíkových radikálů
4. Analgetický účinek HA.

Viskosuplementace se začala využívat pro lékařské účely v Japonsku a Itálii v roce 1987, v Evropě pak v roce 1995. Dva produkty HA jsou v současné době dostupné ve Spojených Státech: přírodní hyaluronan a syntetický hylan G-F 20. Hylany jsou zesíťované HA o vyšší molekulové hmotnosti, která je příčinou jeho větší účinnosti ve srovnání s HA díky lepším viskoelastickým vlastnostem a delšímu přetrvání v kloubním prostoru. [1,3,24]

#### 1.4.4 Oftalmologie

HA je hlavní součástí sklivce oka a díky svým viskoelastickým vlastnostem je klíčovou makromolekulou v oftalmologické chirurgii. Preparáty s HA chrání jemné tkáně oka a během chirurgických zákroků je HA injekčně vpravována do oka, což zajišťuje udržení tvaru oční bulvy během zákroku. Nicméně jejím hlavním využitím je náhrada nebo doplnění tekutiny sklivce, která byla ztracena během procedur, jako jsou operace šedého zákalu nebo implantace čočky. HA je využívána také lokálně k léčbě syndromu suchého oka a Sjögnerova syndromu [3].

Prvním produktem na trhu byl Healon získaný z kohoutích hřebínků, který přišel na trh v roce 1979 a byl brzy následován dalšími produkty. Tento přípravek byl také používán jako viskoelastická ochrana rohového endotelu během transplantace rohovky. V současné době je dostupných spousta přípravků o různé délce HA řetězců. Mnohé preparáty obsahují kombinaci HA a chondroitinsulfátu, příkladem může být preparát Viscoat. Později byla na základě rozsáhlé studie reologických vlastností čistých materiálů a jejich směsí navržena nová kombinace hyaluronátu sodného a hydroxypropylmethyl celulózy nazvána VISC26. Zdá se, že tento kombinovaný preparát splňuje nejlépe požadavky pro využití v oftalmologické chirurgii [3].

#### 1.4.5 Kardiovaskulární aplikace

Vzhledem k antiadhezivním vlastnostem je HA využívána také pro zvýšení kompatibility kardiovaskulárních implantátů, jako jsou cévní štěpy a stenty. Bylo prokázáno, že biomateriály s povrchovou úpravou síťovanou HA, mají sníženou adhezi krevních destiček a nižší riziko vzniku trombů. Kromě toho sulfatované HA deriváty mohou působit podobně jako heparin a jsou tedy využívány jako prostředek ke snižující srážlivost krve [1,5].

#### 1.4.6 Otolaryngologie

Přesto, že se HA vyskytuje v celém těle, je nejvíce koncentrovaná ve specializovaných tkáních, jako jsou například hlasivky. Pro ty jsou důležité vlastnosti kyseliny hyaluronové jako je podpora viskoelasticity, lubrikace, tlumení nárazů a vyplňování prostoru, protože přímo ovlivňují tloušťku a viskozitu hlasivek. HA deriváty se dále využívají k viskoaugmentaci hlasivek, k opravě poraněných nebo zjizvených hlasivek a léčbě hlasivkové nedostatečnosti. Doba zadržení HA ve tkáních je však krátká, proto musí být pro překonání této překážky modifikována molekulární struktura HA s cílem prodloužit tento čas [3].

#### 1.4.7 Porodnictví a gynekologie

Podkladovou tkáň pupeční šňůry tvoří rosolovité vazivo, zvané Whartonův rosol. Toto vazivo je jedním z hlavních zdrojů HA obratlovců. HA se vyskytuje v perivaskulárním prostoru obklopující tři pupeční cévy. Hojnost HA v této struktuře a s ní spojený vysoký obsah vody slouží pravděpodobně jako ochranný mechanismus proti zaklínění či striktuře (zúžení) šňůry. HA zde tedy představuje selektivní mechanismus chránící plod. V gynekologii je HA využívána i k ochraně proti pooperačním srůstům po gynekologických operacích [15].

#### 1.4.8 Kyselina hyaluronová jako prostředek cíleného transportu léčiv

Intenzivně studovaným tématem poslední doby je možnost využití HA polymerů jako prostředků k cílenému transportu léků. Mnohé studie nasvědčují tomu, že řada preparátů na bázi kyseliny hyaluronové může být použita pro transport léků, například do oční bulvy [5,25].

Příkladem využití HA k cílenému transportu léčiv může být transport cytostatika paklitaxelu. Paklitaxel je přírodní diterpenoid, který se využívá při léčbě karcinomu prsu,

vaječníků a některých forem karcinomu plic. Bylo zjištěno, že receptory kyseliny hyaluronové CD44 a RHAMM jsou exprimovány ve větším množství na povrchu některých nádorových buněk, čehož bylo využito pro selektivní transport paklitaxelu k nádorům. Byl připraven konjugát paklitaxelu a kyseliny hyaluronové, v němž bylo využito této kyseliny jako hydrofilního nosiče, který zároveň pomáhá při specifickém příjmu léčiva receptory CD44 [26].

## 2 KYSELINA HYALURONOVÁ V ESTETICKÉ MEDICÍNĚ

### 2.1 Dermální výplně

Hlavním cílem aplikace dermálních výplní je vyhlazení vrásek, záhybů, dokonce i jizev, vyplnění rýh, propadlých oblastí a nerovných kontur. Obecně vzato jsou dermální výplně určeny k vylepšení vzhledu pokožky a k jejímu omlazení.

Trh s dermálními výplněmi prudce roste po celém světě. Přesto, že první dostupné výplně byly kolagenové, v současnosti byly tyto výplně na bázi kolagenu do značné míry nahrazeny HA výplněmi. Za poslední čtvrtstoletí se dermální výplně staly předmětem intenzivního průmyslového výzkumu, který přináší na trh stále nové, efektivnější a bezpečnější produkty. [27].

Ideálními plnivy by měly být materiály, které jsou biokompatibilní, hypoalergenní, dlouhotrvající, bez tendence k migraci a posunu, ekonomické a předvídatelné z hlediska výsledků. Většina plniv má v současné době k dispozici alespoň některé z těchto požadovaných vlastností. Většina z nich jsou biotechnologické materiály, které mohou být použity k různým aplikacím. Individuální výběr potom může být přizpůsoben konkrétnímu účelu a místu použití výplně [28].

### 2.2 Historie dermálních výplní

V roce 1893 provedl německý lékař Gustav Adolf Neuber úpravu obličejových defektů pomocí transplantace tukové tkáně. Stal se tak prvním lékařem, který prováděl augmentaci měkkých tkání. V polovině 20. století se augmentace stala běžným zákrokem a toto období je charakteristické především použitím silikonů. I přes značnou popularitu v roce 1940 a 1950 bylo používání silikonů spojeno s rozvojem granulomů, což nakonec vyvolalo v roce 1992 zákaz silikonů ve Spojených státech. V průběhu druhé poloviny dvacátého století však probíhal intenzivní výzkum látek použitelných pro augmentaci. V 70. letech byl vědci ze Stanfordské univerzity vyvinut pro tyto účely kolagen, který byl živočišného původu.

Kolem roku 1980 byl kolagen nejvyužívanější látkou na poli dermálních výplní. Zatímco v USA se výplně na bázi bovinního kolagenu těšily stále velké popularitě, ostatní země začaly experimentovat s dermálními výplněmi s HA (Hylaform a později Restilan). Začátek 21. století přinesl novější (nebovinní) kolagenové výplně – CosmoDerm a CosmoPlast, dále HA výplně jako Captique a Juvéderm, a další syntetické výplně – Sculptura, Radiesse a Artefill. Vzhledem k obrovskému množství výplňových preparátů, které jsou v součas-

nosti na trhu, je výběr vhodné výplně čím dál obtížnější. Za účelem dosažení optimálních výsledků je povinností dermatologů důkladně pochopit charakteristiku dostupných výplní, jejich indikace, kontraindikace, výhody a nevýhody a způsoby řešení potenciálních komplikací [27].

### 2.3 Typy dermálních výplní

Dermální výplně mohou být klasifikovány na základě různých kritérií: hloubka implantace (povrchová horní a střední dermis, spodní dermis a podkožní tkáň), délka trvání korekce (dočasné, semipermanentní a trvalé výplně), alergie, složení prostředků a stimulační chování (schopnosti řídit procesy proliferace fyziologické endogenní tkáně). Pro schválení produktu a jeho uvedení na trh je vyžadována především bezpečnost dostupných výplní, nejsou ale požadována data o trvanlivosti plniv. Délka přetrvání efektu výplní je závislá na jejich složení, použitém množství, hloubce aplikace a nosiči látek [27].

#### 2.3.1 Dočasné injekční výplně

Jde o produkty na bázi HA nebo kolagenu, které jsou biodegradabilní a poskytují klinické vylepšení trvajících v průměru asi 4 – 9 měsíců. Tyto výplně jsou běžnou volbou a prvním krokem pro nové pacienty, kteří mají zájem o augmentaci měkkých tkání. Vzhledem k jejich časově omezenému efektu jsou nežádoucí účinky a potenciální nespokojenost pacientů rovněž krátkodobé. Proto by měly být dočasné výplně vždy použity v první fázi terapie, přičemž déle trvajících výplně lze ponechat pro další návštěvu pacienta [27,28].

#### 2.3.2 Dlouhotrvající výplně

Zvětšení objemu prostřednictvím dlouhotrvajících výplní trvá v průměru 12 měsíců až několik let. Tyto výplně jsou složeny převážně z polymerních mikrokuliček, které průběžně suspendují a pomalu se rozkládají. Jedna z nejrozšířenějších výplní obsahuje 30 % mikrokuliček hydroxylapatitu vápenatého (25–45  $\mu\text{m}$ ) suspendovaných ve vodném gelovém nosiči. Jako produkty založené na HA je hydroxylapatit vápenatý relativně bezpečný a nevyžaduje žádné testování na kůži před aplikací. Ve srovnání s HA výplněmi však hydroxylapatit vápenatý není doporučen pro ošetření povrchových vrásek a záhybů. Nedoporučuje se také pro augmentaci rtů. Gelový nosič se obvykle absorbuje velmi rychle po aplikaci výplně, což vede k částečnému srážení hydroxylapatitu vápenatého. Při povrchové aplikaci do rtů se může toto srážení projevovat tvorbou viditelných a hmatatelných bílých uzlíků. Při aplikaci do hluboké dermis nebo pokožní tkáně je nad

aplikovanou výplní dostatečná vrstva tkáně, aby se minimalizovala viditelnost těchto uzlů. Z tohoto důvodu je hydroxylapatit vápenatý častěji používán k augmentaci hlubokých vrásek a záhybů stejně jako k vyplnění chybějícího objemu tkáně. Kolem devíti měsíců po aplikaci začne hydroxylapatit vápenatý podléhat postupnému enzymatickému rozkladu s úplným vymizením estetického efektu během dvanácti až osmnácti měsíců po aplikaci.

Další populární dlouhotrvající výplň je složena z mikrokuliček kyseliny polylaktidové (PGA) o velikosti 1 – 63  $\mu\text{m}$ . Jde o biosyntetický materiál, který může být bezpečně používán po desetiletí ve formě vstřebatelných stehů nebo chirurgických vnitřních fixátorů. Díky minimální antigenicitě nejsou před zákrokem potřebné testy kožní snášenlivosti. Produkt je balen jako lyofilizovaný prášek, který se rozpouští za použití destilované vody, a tvorby suspenze mikrokuliček polylaktidové kyseliny. Výplň aplikována hluboko do dermis nebo podkožního vaziva s cílem obnovit plnost obličeje a redukovat hluboké vrásky a záhyby. Po umístění výplň stimuluje zánětlivou reakci těla a je metabolizována na oxid uhličitý a vodu. [28].

### 2.3.3 Permanentní výplně

Koncept trvalé korekce nedokonalostí pomocí injekčních aplikací nebo poskytování estetického vylepšení s trvalými výsledky je velmi atraktivní. Nicméně je nutné zopakovat, že stárnutí obličeje je dynamický proces. Výplňové implantáty napravující ztrátu objemu nebo zlepšující obličejové kontury u 35-ti letých pacientek může vypadat jinak za 10 let, kdy se kůže a okolní tkáně ztenčují. Důležité je, že komplikace spojené s trvalými výplněmi jsou všeobecně mnohem hůře řešitelné než přechodné vedlejší účinky typické pro dočasné výplně. Nicméně většina dostupných permanentních výplní je tvořena syntetickými polymery nebo kombinací materiálů [29].

### 3 DOČASNÉ DERMÁLNÍ VÝPLNĚ ZA POUŽITÍ KYSELINY HYALURONOVÉ

Normální stárnutí pokožky je spojeno s úbytkem HA. To snižuje kapacitu vázané vody a snižuje tkáňový turgor, což přispívá ke vzniku povislé kůže a zvýraznění kožních vrásek. Bylo zjištěno, že intenzivní hygroskopické vlastnosti HA pozorované *in vivo* existují také v injekčních výplních HA. Další výhodou HA je potenciál k nové produkci kolagenu [30].

HA produkty tvoří v současné době většinu dermálních výplní na trhu. HA v přírodní formě má ve tkáních poločas rozpadu pouze 12 až 24 hodin. Z toho důvodu je při přípravě výplní HA síťována, přičemž dochází ke změně z kapalné HA na gel. Se zvyšujícím se síťováním roste odolnost k enzymatickým, mechanickým a radikálovým rozkladům v těle. Ke zvýšení stability a poskytnutí déletrvajícího efektu je HA síťována s molekulami 1,4-butandiol diglycidyléteru (produkty jako Restylane, Perlane, Juvéderm). [31] HA je snadno metabolizována v játrech na štěpné produkty, oxid uhličitý a vodu. V kůži je HA rozkládána enzymem hyaluronidázou, mechanickou degradací způsobenou mimikou obličeje a volnými radikály [27].

#### 3.1 Aspekty výběru HA výplní

HA výplně nevyžadují provádění kožních testů a riziko alergických reakcí je u produktů, které jsou schváleny FDA minimální. Při výběru produktu hraje roli cena, dostupnost, doba účinnosti korekce a velikost požadované jehly. Výrobci mají snahu vyrábět cenově dostupné, trvanlivé produkty, které mohou být aplikovány většími i menšími jehlami. Nicméně jsou další aspekty, které je třeba vzít v úvahu při výběru výplně, jako je koncentrace HA, síťování (stupeň síťování, poměr zesíťované a nezesíťované HA, typ použité technologie pro síťování), elastický modul, míra hydratace produktu v injekční stříkačce, přítomnost lidokainu, potřebná velikost jehly, design a velikost stříkačky [27].

##### 3.1.1 Koncentrace HA

Jedním z klíčových faktorů pro dosažení požadovaného stupně korekce je koncentrace HA. Celková koncentrace HA (mg/ml) však zahrnuje jak síťovanou, tak i volnou HA. Nesíťovaná HA je přidávána do různých výplní jako lubrikant, zajišťuje tekutost produktu, pomáhá snížit sílu vytlačování a umožňuje snadnější vstříkávání, což je hlavní důvod, proč je součástí produktů. Protože sama o sobě nepodílí na finální korekci, byl zaveden nový ter-

mín, „efektivní koncentrace HA“, který je lepším měřítkem HA, která bude přispívat ke korekci tkání.

$$\text{Efektivní HA (EFA)} = \text{celková HA} - \text{nesít'ovaná HA}$$

Efektivní HA nemá význam pouze pro efekt dlouhotrvající výplně, ale je důležitá i pro první reakce po aplikaci. Koncentrovanější produkty budou mít tendenci vázat více vody a po aplikaci budou mít větší objem ve tkáních [27,32].

### 3.1.2 Síťování HA

Síťování je velmi důležité pro stabilizaci HA. Výrobci získávají svoje HA z podobných zdrojů, obvykle dodávaných v práškové formě, která při kontaktu s vodou vytváří viskózní strukturu. Tento gel se již začíná podobat produktům aplikovaným pacientům jako výplně měkkých tkání nebo při léčbě artritidy. Přesto je však stále nestabilní a aby nepodléhal rychle degradaci, je nutné provést síťování. K síťování HA řetězců a ochraně před rozkladem jsou v současné době schválena dle FDA tři postupy lišící se typem síťovacího činidla. Síťování je zprostředkováváno esterovými nebo etherovými vazbami. Jeden typ síťování je zprostředkován etherovými vazbami tvořenými 1,4-butandiolem diglycidyl etherem (BDDE, síťovací činidlo u výrobků Restylane a Juvéderm), druhé síťovací činidlo je divinyl sulfon (DVS, využívané u Prevelle Silk, Captique a Hylaform) a třetím činidlem biscarbodiimid (BCDI). Síťovací činidlo 1, 2, 7, 8 diepoxyoktan (DEO) vytváří jak esterové, tak etherové vazby (dvojitě síťování). Každé z těchto chemických činidel poskytuje pro HA řetězce stabilitu a mají své výhody. Nicméně, po ukončení procesu síťování je důležité, aby byly odstraněny z konečného produktu, většinou rozsáhlými promývacími kroky. Většina těchto činidel je toxická ke tkáním a jejich finální koncentrace jsou limitovány FDA na stopová množství. Zbytková koncentrace síťovacích molekul je podle FDA a lékařů považována za potenciální riziko pro bezpečnost finálního produktu. Pro praktické účely je množství těchto molekul v mnoha HA výplních prakticky nedetekovatelné nebo obtížně stanovitelné. Většinou je síťování vyjádřeno v procentech nebo stupních a porovnává poměr disacharidů se síťovacími činidly přítomnými v přípravku. Jedním z důsledků zvýšeného zesíťování je zvýšení viskozity stejně jako zvýšení trvanlivosti HA, což má pro injekční výplně zásadní význam. Na druhou stranu, vysoký stupeň zesíťování molekul může způsobit horší biokompatibilitu a projevuje se různými reakcemi v těle [27,32].



### 3.1.3 Tvrdost gelu

Tvrdost gelu je dána především stupněm zesíťování mezi řetězci a celkovou koncentrací HA, přičemž více zesíťované produkty mají tendenci být tvrdší než méně zesíťované. Tvrdost gelu je měřena pomocí hodnot elastického modulu ( $G'$ ). Gely s nízkou  $G'$  jsou méně zesíťovány a jsou méně tuhé než gely s vyšší  $G'$ . Spolu se soudržností gelu jsou hodnoty elastického modulu využívány k určení vhodného umístění dermálních výplní HA. Produkty s vyšší  $G'$  a soudržností jako je Juvéderm Ultra Plus a Perlane by měly být používány k výplním hlubších vrásek, jako je nosoretní rýha a vrásky u koutků úst, stejně tak se využívají pro lifting postranní části obočí, korekci glabelárních vrásek a dodání objemu ušním lalůčkům. Kapalnější produkty jako Juvéderm Ultra a Restylane jsou vhodnější pro použití na větší plochy, například lící kosti nebo tváře a produkty s nízkým  $G'$  (Hylaform) jsou aplikovány na oblasti, které vyžadují měkké činidlo a používají se na výplně rtů nebo slzných váček pod očima.

Měření  $G'$  je prováděno aplikací gelu mezi dvě kovové destičky. Velikost odporu kladená na horní destičku klouzající po gelu koreluje s  $G'$  pro daný gel. Koncentrace, množství volné HA přítomné v gelu a molekulová hmotnost surovin použitých v přípravku také ovlivňují  $G'$ . Například čím bude více volné HA, bude větší lubrikační efekt gelu a produkt snadněji poteče [27,32].

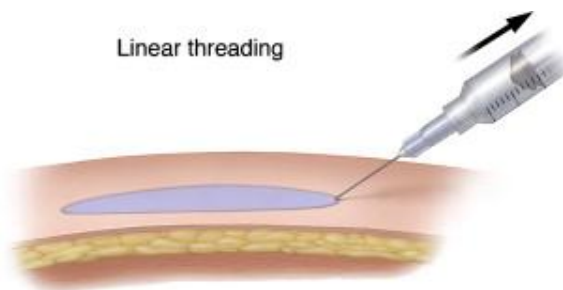
## 3.2 Techniky injekčních výplní kyselinou hyaluronovou

Všechny výplně měkkých tkání jsou aplikovány přes ostrou jehlu, která je v balení s injekční stříkačkou a jejich velikost závisí na viskozitě výplně. Výplně s malou viskozitou lze poměrně snadno aplikovat přes malý otvor jehly (30 gauge), zatímco u viskóznějších produktů jsou vyžadovány jehly s otvorem větším (26 – 27 gauge) kvůli většímu odporu tečení [28]. Pro aplikaci dermální výplně je vstupní bod identifikován kladením jehly na kůži ošetřované oblasti. Délka jehly by měla korespondovat s požadovanou ošetřovanou oblastí. Dermální výplně jsou aplikovány za vyvinutí konstantního tlaku na píst stříkačky, přičemž tlak pístu je uvolněn těsně před vytažením jehly z kůže. Výplň je aplikována rovnoměrně v ošetřované oblasti [33]. Při aplikaci by měly být okolní měkké tkáně napnuty, aby pomohly zpevnit kožní povrch pro vpich jehly. Po vpichu do kůže by mělo být zkosení umístěno směrem dolů, aby se minimalizovalo nechtěné uložení výplně do povrchnějších vrstev. Podle ošetřované oblasti může být použita pro správné umístění výplně jedna nebo více technik.

V následujících podkapitolách jsou popsány obecné techniky používané k povrchové injekční aplikaci výplní na vrásky a ke hlubší aplikaci pro vytvoření kontury obličeje a pro zvětšení objemu. Mezi nejběžnější techniky patří lineární technika, technika sériových vpichů, vějířová a mřížková technika [28,34].

### 3.2.1 Lineární technika retro-aplikace

Při aplikaci výplní do záhybů a rýh je jehla vsunuta do požadované hloubky a je pomalu vytahována, přičemž je přípravek vtačován do dutiny vytvořené jehlou. Pro nosoretní rýhu hloubka obvykle sahá do hluboké dermis, u vertikálních vrásek nad horním rtem je jehla umístěna kolmo k vráskám v povrchové dermis. Tato technika je také používána k vymezení hranice červeně rtů nebo ke zvětšení rtů. Je poměrně obtížné zajistit přesnou hloubku vpichu v kůži, vzhledem k tomu, že podkožní tkáň klade pouze malý odpor vůči jehle. HA výplně, které jsou vpichovány příliš povrchově za použití této techniky, mohou mít za následek nevzhledný modravý nádech nebo viditelný proužek výplně, přičemž může trvat až rok než dojde k jeho rozkladu. Ke snížení pravděpodobnosti intravaskulárního vpichu v oblasti očnice musí být injekční stříkačka před vpichem jemně aspirována. Aplikace HA lineární technikou je zobrazena obrázkem 4.

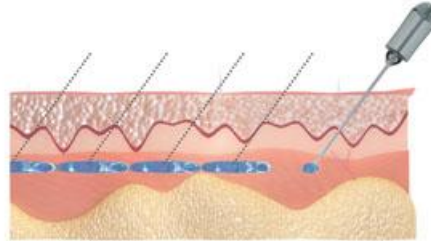


Obrázek 4: Lineární technika aplikace HA [35]

### 3.2.2 Technika sériových vpichů

Hrot jehly je vpraven do povrchové vrstvy kůže pod úhlem přibližně 30° a výplňový materiál je aplikován ve formě drobných kapiček (0,005 – 0,01 ml). Při této technice může dojít ke vzniku drobných podlitin nebo místního zblednutí, pokud je zvolena nevhodná velikost kapek a nevhodná rychlost aplikace. Tato technika je určena pro povrchové vrásky, jako jsou ty podél tváří, vrásky u ústních koutků nebo v glabelární oblasti. Série povrchových, rychlých vpichů jsou prováděny v rozmezí 3 – 4 mm tak, aby došlo ke spojení jednotlivých kapiček podél vrásky. Na tuto techniku se mohou použít pouze výplně s málo viskózní HA.

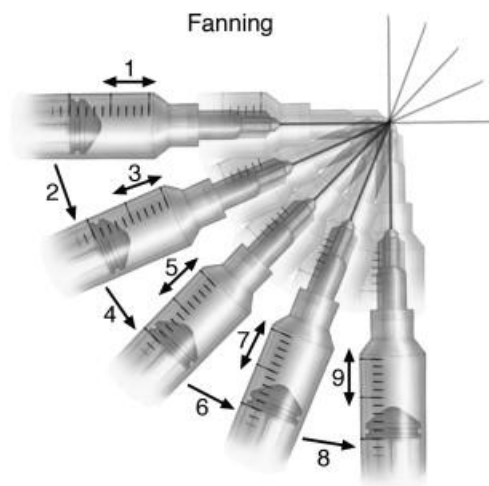
Jehla může být během zákroku jednou nebo dvakrát vyměněna, aby byla zajištěna její ostrost během celého zákroku. Technika sériových vpichů je znázorněna na obrázku 5.



Obrázek 5: Technika sériových vpichů při aplikaci HA [36]

### 3.2.3 Vějířová technika

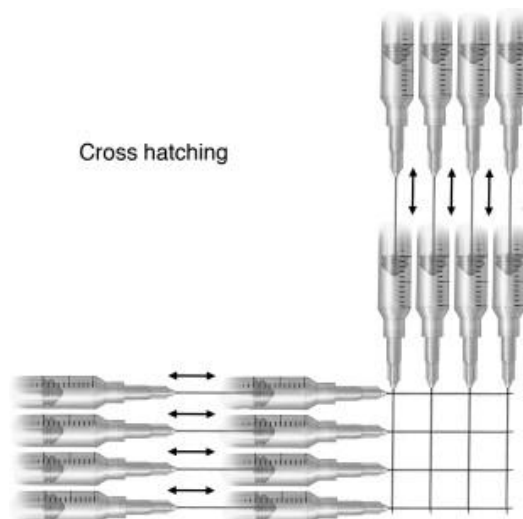
Jehla je zavedena často až k rukojeti a výplň je aplikována během vysouvání stejně jako u lineární techniky. Nicméně před tím, než je špička jehly vysunuta z kůže, je změněn její směr tak, aby další dávka produktu byla aplikována vedle prvního vpichu. Postup je opakován přes stejný vpich jehly, dokud není vpravena vrstva výplně vějířkovitého nebo trojúhelníkového tvaru. Tato technika se obvykle používá na vyšší partie nosoretní rýhy vedle nosních křídel, na vrásky u ústních koutků a na tvářích a je znázorněna na obrázku 6.



Obrázek 6: Aplikace HA vějířovou technikou [35]

### 3.2.4 Mřížková technika

Mřížková technika aplikace výplně vyžaduje větší množství vpichů provedených tak, že první řada vpichů leží paralelně ke druhé. Druhá řada je pak umístěna kolmo k první, viz obrázek 7. Tato technika poskytuje strukturální podporu dané oblasti a vytváří objem [34].



Obrázek 7: Mřížková technika aplikace HA [35]

### 3.2.5 Sendvičová technika

Využívá se pro výplně hlubokých kožních nedokonalostí, jako jsou hluboké rýhy mezi obočím. Nejdříve je proveden vpich do hluboké dermis pod úhlem asi 30° k rovině epidermis a následně do střední dermis pod úhlem asi 15° [37].

### 3.2.6 Technika „Perpendicular buttress“

Tato technika je určena pro hluboké nosoretní rýhy, které mají tendenci k přechýlení vrásek i přes umístění výplně a provádí se spolu s technikou lineární. Potom, co je plnivo umístěno doprostřed vrásky běžnou cestou, mnohonásobné krátké pramínky jsou umístěny intradermálně kolmo k vrásce, aby přidaly podporu a redukovaly pokles.

### 3.2.7 Technika „Depot“

Bolusový nebo depotní vpich výplně je umístěn hlouběji k vytvoření objemu. Tato technika se provádí pomocí tupé kanyly, aby se zabránilo nitrožilnímu vpichu.

### 3.2.8 Technika „Push“

Tato nová technika je používána k vyplnění kruhů pod očima. Použitím jemné, tupé kanyly je malé množství plniva umístěno subperiostálně do podočnicového otvoru. Poté je toto

plnivo jemně stlačováno nebo masírováno pomocí palce v místech, kde došlo k vytvoření nerovností. Tato technika se vyhýbá provádění vpichů pomocí jehly a může být použita i na jiné partie obličeje [34].

### **3.3 Aplikace HA podle lokalizace v obličeji**

Téměř všechny typy vrásek mohou být zlepšeny HA výplněmi. Mohou být použity různé druhy HA podle indikací. Někdy může docházet ke tvorbě modřin, jejich hojení může být urychleno opakovanou aplikací krému s vitamínem K [38].

#### **3.3.1 Horní partie obličeje**

##### **3.3.1.1 Vrásky na čele**

Opakovaný pohyb mimických svalů způsobuje vznik horizontálních vrásek. Efektivní metodou je injekční aplikace botulotoxinu. Nedynamické vrásky jsou výsledkem úbytku podkladových tkání a výplň nahradí tento ztracený objem. Korekce vrásek na čele je prováděna především u vrásek povrchových. Pro tyto účely se doporučuje méně zesíťovaná homogenní HA. Horizontální vrásky jsou vyplňovány technikou sériových vpichů [39].

##### **3.3.1.2 Glabelární vrásky**

Hluboké glabelární vrásky způsobené nadměrným mračením mohou být vyplněny HA a uvolněny botulotoxinem. Vždy je lepší nejdříve aplikovat botulotoxin a počkat týden před provedením výplně. V této oblasti není vhodné provádět hluboké vpichy zasahující až do hypodermis, především kvůli riziku intravaskulárního vpichu a sekundárnímu riziku zjizvení. Výrobci doporučují HA s malými velikostmi částic nebo méně zesíťovanou homogenní HA. Výplň je v této oblasti aplikována technikou sériových vpichů nebo lineární technikou a měla by být aplikována povrchově, aby bylo minimalizováno riziko kožních nekrotů způsobených blokadami tepen [38,39].

##### **3.3.1.3 Pokleslé obočí**

Estetická poloha obočí je u žen nad očníkovým obloukem a u mužů podél očního oblouku. Pohmatem lze určit, zda se jedná o pokles obočí nebo přebytečnou kůži horního víčka. Obecně jsou injekce vpichovány paralelně k obočí, přičemž je potřeba vyhnout se vpichu podél vnitřního okraje očního oblouku a v oblasti mezi 1,5 cm a 2,7 cm laterálně ke středu glabely [39].

### 3.3.2 Střední partie obličeje

#### 3.3.2.1 Oblast kolem očí

Hluboké kruhy pod očima a oblast očnicového oblouku jsou rizikové a velmi citlivé. Výplně mohou proto provádět pouze zkušení odborníci. Přípravky musí být aplikovány hlouběji, aby se zabránilo otoku. Ve většině případů není nutná anestezie, jinak může být použit jednu hodinu před zákrokem znečítlivující krém nebo může být provedena anestezie blokuující nervy (zejména pokud jde o periorální oblast). Aby se co nejvíce snížila bolestivost a riziko vytvoření modřin, je lepší používat co nejtenčí jehlu. Jednou z nejvhodnějších technik je lineární technika, ale pro ošetření povrchových vrásek je někdy třeba přidat techniku sériových vpichů. Pokud je aplikace příliš povrchová, mohou se objevit modřiny, naopak je-li umístění výplně hluboké, přípravek příliš rychle vymizí. Objem výplně pro dobrou korekci závisí na hloubce a délce vrásky, ale také na použité HA. Životnost výplně závisí na procesu stabilizace a množství vpichované HA, ale ne vždy lze s jistotou odhadnout délku trvání korekce [38].

#### 3.3.2.2 Nosoretní rýha

Nosoretní vrásky vedou od křídel nosu po svislé vrásky u koutků úst. S rostoucím věkem se prohlubují a prodlužují jako následek atrofie tukových polštářků na tvářích. Při aplikaci by měly být bráno v úvahu následující:

1. Nepatrná nosoretní rýha je viditelná již na mladém obličeji. Některé nosoretní rýhy nevyžadují korekci a nadměrná korekce může mít za následek „opičí vzhled“
2. Důležité je hodnocení pacientova obličeje, protože původ nosoretních rýh může být způsoben ztrátou objemu v sousední oblasti.

Pro výplně nosoretní rýhy je využívána vějířová technika, lineární technika a technika sériových vpichů. Hloubka aplikace závisí na hloubce vrásek [39].

#### 3.3.2.3 Tváře

Ztráta tkáně na tvářích může být důsledek běžného stárnutí, ztráty na váze nebo léčby některých nemocí. Zvětšení objemu tváří přináší významný omlazující efekt. Dodáním objemu na propadlý střed obličeje dochází k vynikajícímu liftingovému efektu, což redukuje hrubost nosoretní rýhy a dochází ke zvednutí koutků úst.

Využívají se produkty s vyšším elastickým modulem, které jsou aplikovány technikou sériových vpichů nebo lineární technikou do spodní dermis nebo podkožní tkáně [39].

### **3.3.3 Spodní partie obličeje**

#### **3.3.3.1 Zvětšení rtů**

Vrásky na světlých partiích rtů mohou být zmírněny, bez ohledu na používané techniky, obnovou povrchu. V průběhu stárnutí začínají být rty prázdné, tenké a mohou být použity tři druhy technik augmentace, buďto samostatně nebo v kombinaci. Tyto techniky bývají bolestivé, proto se doporučuje požívat anestezie blokující nervy. První technika spočívá v aplikaci do vnitřní strany rtu, který je v kontaktu se zuby, což způsobí zvětšení objemu horního rtu, ale vzhled z boku není vždy atraktivní. Druhá technika se skládá ze vstřikování do hranice červeně rtů, čímž dojde ke zvýraznění obrysu úst, ale nejde o zvětšování objemu. V rámci třetí techniky se provádí aplikace do červené části obou rtů. Všechny techniky mohou být kombinovány a je také možné znovu vytvořit nebo zvětšit philtrum [38].

#### **3.3.3.2 Svislé vrásky od koutků úst („Marionette“)**

Tyto vrásky způsobují smutný vzhled, ale není jednoduché je odstranit pouhým použitím HA, proto se jeden týden předem aplikuje botulotoxin, který se podílí na zlepšení depresivního vzhledu. Vrásky jsou vyplňovány lineární technikou. Lze také dosáhnout vyplnění depresivních koutků úst, ale vyžaduje to velký objem výplně a zákrok nemusí vždy splnit pacientova očekávání [38,39].

## 4 PRŮZKUM TRHU

Z vybraných produktů byl proveden průzkum trhu a na základě jejich rozdílných vlastností byl vypracován přehled, jehož shrnutí je v tabulce 2.

Tabulka 2: Porovnání vybraných vlastností jednotlivých produktů

	Koncentrace HA [mg/ml]	Viskozita gelu	Doba trvání účinku	Obsah lidokainu
Hylaform	4,5–6,5	malá	3–4 měsíce	NE
Restylane	20	velká	6–9 měsíců	dle produktů řady
Juvéderm	24	střední	až 1 rok	dle produktů řady
Prevelle Silk	5,5	větší než Hylaform	4–6 měsíců	ANO
Filorga	10–23 dle produktů řady	dle produktů řady	až 1 rok	NE
Surgiderm	18–24 dle produktů řady	dle produktů řady	až 1 rok	NE
Teosyal	20–25 dle produktů řady	dle produktů řady	až 18 měsíců	ANO

### 4.1 Hylaform

Hylaform byl prvním produktem na trhu, který využíval divinyl sulfon (DVS) jako síťovací systém. Hylaform je produkt získaný z kohoutích hřebínků a vyrábí se síťováním hydroxylových skupin HA s DVS, čímž se získá látka podobná gelu, která má velikost částic závislou na vytlačování gelu přes síto při výrobním procesu. Nejmenší gelové částice má produkt **Hylaform Fine Line**, který je určen pro povrchové vrásky. Hylaform, složený z částic střední velikosti (průměrná velikost 400 m), je určen pro aplikaci do střední části dermis pro korekci jemných a středně hlubokých vrásek obličeje. **Hylaform Plus** je složen z větších částic (průměr 700 m) a je používán pro hlubší vrásky. Střední hustota zesíťování poskytuje výplně biokompatibilní, měkké a poddajné. Elastický modul těchto výplní je ve srovnání s ostatními HA produkty menší, proto se jedná v současné době o nejměkčí HA výplň na trhu a je ideální pro výplně rtů. Tyto výplně obsahují 5,5 mg/ml zesíťované HA.



### 4.1.1 Výhody

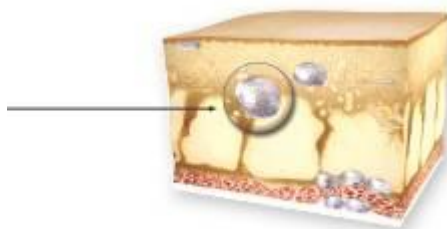
Hylaform má nízký  $G'$ , což znamená, že není příliš tuhý a dodává příjemný pocit na pokožce. Jeho měkkost a tvárnost je ideální pro výplně rtů, vrásky kolem úst a periorbitální oblast stejně jako na větší plochy, jako jsou lícni kosti a čelisti. Hylaform lze velmi snadno nanášet s malou silou vytlačováním přes jehlu 30-gauge. Vedlejší účinky jsou vzácné, mírné a dočasné.

### 4.1.2 Nevýhody

Mezi nežádoucí účinky, které jsou vzácné a relativně mírné patří modřiny, erytém, indurace a svědění. Kontraindikace jsou podobné jako u ostatních plniv a jde o autoimunitní nebo zánětlivá onemocnění, alergie, anafylaktické reakce, imunosupresivní terapii a těhotenství nebo kojení. Také u pacientů alergických na produkty živočišného původu není vhodné používat tyto přípravky. Hylaform je v injekční stříkačce plně saturován vodou, a proto nedochází ke zvětšení jeho objemu po aplikaci. Aplikace Hylaformu může být bolestivá, vzhledem k tomu že preparát neobsahuje anestetikum. Nicméně díky jeho jemnosti je bolestivost snížena oproti jiným HA výplním. Bolestivost v místě vpichu je možné snížit aplikací lokálních anestetik. Kosmetické účinky Hylaformu a Hylaformu Plus trvají většinou 3 až 4 měsíce, což je s největší pravděpodobností způsobeno jejich vlastnostmi, síťováním a nízkou koncentrací HA [27].

## 4.2 Restylane

Restylane byl prvním schváleným produktem na trhu, který neobsahoval HA živočišného původu. Jde o gel získaný pomocí bakteriální kultury *Streptococcus equi*. Restylane má větší koncentraci HA a nejvyšší  $G'$ , což vypovídá o tom, že jde o tužší produkt. Je nejvíce populární z plniv HA v USA díky jeho bezpečnosti, oblíbenosti značky a snadné aplikaci. Je složen přibližně z 100 000 částic/ml a obsahuje 20 mg/ml HA. Je určen k redukci vrásek ve střední dermis, jak je vidět na obrázku 8, a v USA byl schválen v roce 2003.

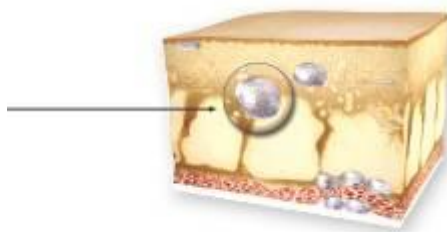


Obrázek 8: Aplikace do střední dermis [40]

Mezi další produkty patří Restylane Perlane, Restylane Fine Line, Restylane touch, Restylane Lip a Restylane SubQ [27]. Řada produktů Restylane je znázorněna na obrázku 11.

#### 4.2.1 Restylane Perlane

Perlane, další produkt spadající pod Restylane, je vhodný pro podstatně hlubší vrásky, kontury obličeje, rty, kruhy a prohlubně pod očima. Aplikace se provádí do hluboké dermis, což je demonstrováno na obrázku 9. Skládá se z větších částic HA gelu, ale koncentrace HA je stejná. Výhodou je menší spotřeba materiálu, minimum komplikací a možnost kombinace s lidokainem [27,40].



Obrázek 9: Aplikace do hluboké dermis [40]

#### 4.2.2 Restylane SubQ

Je aplikován na kontury obličeje, zvětšování objemu, tváří a brady a také lze využít na lipotrofie [40]. Aplikace do hluboké subkutánní vrstvy a supraperiostálně je vyobrazena na obrázku 10.



Obrázek 10: Aplikace do hluboké subkutánní vrstvy a supraperiostálně [40]

Restylane a Perlane jsou dodávány jako průhledné gely s trvanlivostí 18 měsíců při skladování při pokojové teplotě. Restylane je aplikován za použití lineární nebo zpětné techniky. Je důležité, aby se při vstříkávání zabránilo stažení jehly, což by mohlo při povrchové

aplikaci způsobit modře zbarvené podlitiny. Při aplikaci do nosoretních rýh a vrásek nad horním rtem může být použita také vějířová technika.

#### 4.2.3 Výhody

Díky vysokému  $G'$  je Restylane vhodný pro střední až hluboké vrásky a ve srovnání s ostatními výplněmi déle vydrží v lidské tkáni. Kosmetický efekt má trvání kolem 6 měsíců, Perlane 6 – 9 měsíců. Restylane je vhodný k výplním nosoretních rýh, svislých vrásek od koutků úst, prohlubní brady a čelisti, nosních deformací, jizev po akné a dalších deformit.

#### 4.2.4 Nevýhody

Se všemi HA výplněmi je spojeno pohmoždění. Nicméně tyto komplikace jsou většinou spojeny s nedostatečnou kvalifikací ošetřujícího lékaře nebo je zvolena nevhodná technika. Pomalejší aplikace HA výplně zamezuje riziku vzniku zánětu. Restylane může být použit k výplni tvaru rtu, ale Restylane a Perlane nejsou vhodné pro výplň těla rtu. Nicméně mimo USA je dostupný Restylane Lip, který je lepší volbou pro použití v této oblasti [27].



Obrázek 11: Série produktů od Restylane [41]

### 4.3 JUVÉDERM™

Juvéderm je vyráběn procesem bakteriální fermentace stejně jako mnohá další plniva a byl schválen FDA koncem roku 2006. Na trhu je celá řada produktů, které se mohou lišit množstvím koncentrace HA, mírou a pravidelností síťování. Na rozdíl od produktu Restylane, který má úzký rozsah velikostí částic, Juvéderm je gel hladké konzistence a skládá se z částic různé velikosti a tvaru (hyalacross technologie). Produkty jsou dodávány jako čirý gel v 0,8 ml injekční stříkačce a jsou skladovány při pokojové teplotě. Mohou být použity

různé techniky, včetně techniky sériových vpichů [27]. Na obrázku 12 je možné vidět sérii produktů Juvéderm.

### **JUVÉDERM™ Ultra, JUVÉDERM™ Ultra Plus**

Jde o bezbarvý gel kyseliny hyaluronové, který je aplikován na tkáň obličeje k vyhlazení středně hlubokých vrásek zejména v oblasti nosu a úst, dočasně zvyšuje objem obličejových tkání a navrácí obličejí hladší vzhled. U většiny pacientů stačí jedno ošetření k optimálnímu vyhlazení vrásek a efekt trvá asi 9 měsíců až 1 rok. Možné jsou také vedlejší účinky mírné nebo střední povahy, jejichž trvání je ale krátké (maximálně 7 dní) a jde o dočasné reakce v místě vpichu, jako je zarudnutí, bolestivost, tvrdost, otoky, boule, podlitiny, svědění nebo změna barvy. Juvéderm Ultra i Ultra Plus obsahují 24 mg/ml HA, ale Juvéderm Ultra Plus má vyšší stupeň síťování, díky čemuž je vhodnější pro nejhlubší vrásky na obličejí a je aplikován hlouběji než Juvéderm Ultra, který je vstříkovan do střední dermis [27,42].

### **JUVÉDERM™ Ultra XC, JUVÉDERM™ Ultra Plus XC**

Výplň obsahující malé množství lokálního anestetika (lidokain), které tlumí bolest vyvolanou vpichem do kůže a zvyšuje komfort aplikace [43].

Součástí řady jsou také:

**Juvéderm VOLUMA** – používá se pro obnovení objemu nebo tvarování oblastí, jakými je brada a tváře

**Juvéderm HYDRATE** – slouží k hluboké hydrataci obličeje, krku, dekoltu a rukou

**Juvéderm ULTRA SMILE** – využívá se k výplním rtů a lze jej použít pro zvýraznění kontury rtů

**Juvéderm ULTRA 2** – slouží k výplním středně hlubokých vrásek především kolem očí a jemných povrchových linek

**Juvéderm ULTRA 3** - je určen k vyplnění středních a hlubokých vrásek například mezi nosem nebo koutky úst

**Juvéderm ULTRA 4** – vyznačuje se velkým objemovým účinkem a používá se na vyplnění nejhlubších vrásek a rýh.

### 4.3.1 Výhody

Výhodou je střední tuhost těchto produktů, což umožňuje aplikaci na všechny středně hluboké až hluboké vrásky a na určité typy jizev. Juvéderm Ultra je snadno aplikován na okraj červeně rtů nebo do těla rtů. Vysoká koncentrace a vysoká míra síťování zajišťují dlouhodobé estetické účinky. Juvéderm není ve stříkačce zcela hydratován, proto může po aplikaci mírně zvětšovat objem díky schopnosti absorbovat větší množství vody.

### 4.3.2 Nevýhody

Všechny výrobky mohou po aplikaci způsobit zarudnutí, otok a modřiny, při nedostatku lidokainu lze bolest zmírnit lokálními anestetiky. Juvéderm lze s opatrností aplikovat do oblasti slzných kanálků, ale v blízkosti oka je nutná velice opatrná manipulace s jehlou, proto by měla být aplikace velmi pomalá jen s mírnou silou vytlačování. Pokud jsou tyto přípravky aplikovány příliš povrchově, může vzniknout namodralý odstín, v okolí slzného kanálku modré váčky, které mohou být odstraněny pomocí hyaluronidázy [27].



Obrázek 12: Řada produktů Juvéderm [44]

## 4.4 Prevelle Silk

Tento produkt je získáván opět prostřednictvím bakterií a vyznačuje se svou střední měkostí danou jeho  $G'$ . Je měkčí než Restylane a co se týká jemnosti, podobá se Juvédermu. Má vyšší stupeň síťování než Hylaform a tudíž je o něco tužší. Obsahuje 5,5 mg/ml zesíťované HA s průměrnou velikostí částic 300 nm. Prevelle je vhodný pro ošetřování mělkých až středních vrásek, rtů a jizev. Obsahuje 0,3 % lidokainu a byl schválen v USA v roce 2008. Tento produkt je vhodný pro výplně rtů, protože bolestivost při aplikaci je zmírněná.

Výhodou je, že může být použit na jakékoliv středně hluboké a hluboké vrásky, tělo rtu a oblasti kolem očí. Jde o první produkt v USA, který obsahoval lidokain. Nevýhodou je doba trvání korekce, která není zcela známá, ale předpokládá se asi 4 až 6 měsíců.

#### 4.5 Prevelle Dura

Jde o další výplň vyrobenou pomocí biotechnologií, která byla schválena pro americký trh v roce 2008. Je složena z částic HA o velikosti 220  $\mu\text{m}$ , které jsou zesíťovány prostřednictvím DEO (dvojitě síťování prostřednictvím etherových a esterových vazeb). Esterové vazby poskytují lepší stabilitu a delší trvání. Prevelle Dura je vhodný pro korekci středních a hlubokých vrásek ve kterékoliv dermální vrstvě. Má vyšší viskozitu, což vyžaduje větší tlakovou sílu na injekci při aplikaci [27].

#### 4.6 Filorga

Výplně HA této značky, které mají schopnost zbrzdit nebo zastavit příznaky stárnutí, byly vyvinuty v 90. letech a produkty této skupiny jsou používány ve více než 50 zemích světa. První francouzské dermokosmetické řady byly uvedeny na trh v roce 2007, v roce 2009 byla představena první polyvalentní zesíťovaná HA X-HA3 a v roce 2010 byl uveden zbytek výplní [45]. Řadu produktů dermálních výplní Filorga znázorňuje obrázek 13.

##### X-HA<sup>3</sup>

Jedná se o produkt získaný biofermentací neživočišného původu a vysoce čištěný v zájmu dokonalé biokompatibility. Jde o jednorázově aplikovaný a vstřebatelný implantát, jehož koncentrace je 23 mg/ml volné a křížem zesíťované HA. Síťování je provedeno prostřednictvím BDDE, což zajistí maximální účinek a snášenlivost. Pro dodání objemu dochází již při malém množství tohoto produktu k nadzvednutí tkání a vyplnění středních a hlubokých vrásek, což je umožněno jedinečnou viskoelasticitou, která je zprostředkována díky výrazné molekulové hmotnosti látky, vysoké koncentraci HA a upravené struktuře. Další vlastností je modelace, která umožňuje po aplikaci tvarovat, modelovat a rozmístit výplň ve tkáních. Díky homogenitě je jeho konzistence rovnoměrná, což umožňuje přesnou a pravidelnou aplikaci. X-HA<sup>3</sup> se využívá pro výplně nosoretní rýh, svislých vrásek od koutků úst, kontur obličeje, vrásek kolem úst, lícních kostí, spodních očních víček, vrásek mezi obočím, kontur rtů a dodání objemu rtů. Výsledky po jedné aplikaci mají okamžitý efekt a přetrvávají 9 až 12 měsíců [46].

### XHA-VOLUME

XHA-VOLUME je dermální výplň získaná biofermentací a je připravená ze zesíťované HA, jejíž koncentrace v produktu je 23 mg/ml. Jde o vysoce viskózní produkt o vysoké čistotě a perfektní homogenitě. Aplikuje se pomocí automatické jehly nebo kanyly hluboko do dermis, hypodermis a supraperiostálně za využití vějířové, sendvičové techniky, pomocí kanyly nebo v podobě hlubokých kapek. XHA-VOLUME lze použít k doplnění korekcí provedených produkty X-HA<sup>3</sup> a M-HA 18 [47].

### M-HA 18

Jde o výplň obsahující nezesíťovanou HA stabilizovanou prostřednictvím glycerolu. Vyznačuje se nízkou viskozitou, vysokou homogenitou a koncentrace obsažené HA je 18 mg/ml. Využívá se pro odstranění jemných a povrchových vrásek, obnovuje hydrataci kůže, zpevňuje pleť a lze ji aplikovat lineární technikou na obličej, krk, dekolt nebo hřbety rukou [48].

### M-HA 10

M-HA 10 je produkt o vysoké čistotě a koncentraci HA 10 mg/ml, která si díky sterilizaci nanofiltrací zachovává své viskoelastické vlastnosti a vyznačuje se vysokou biokompatibilitou. Produkt je aplikován na obličej, krk, dekolt nebo hřbety rukou za účelem dosažení hluboké rehydratace, zlepšení kvality kůže a prozáření pleti. Aplikace se provádí jehlou nebo kanylou [49].



Obrázek 13: Řada produktů dermálních výplní Filorga [50]

## 4.7 Surgiderm

Surgiderm je produkt neživočišného původu, je zcela vstřebatelný a přípravky mají dlouhodobé účinky. Průměrné trvání při ošetření středních až hlubokých vrásek je 9 až 12 měsíců. Používá se pro zlepšení vzhledu oblastí vykazujících známky stárnutí, jako je čelo, oči, lící kosti, rty, ústa a brada. Řada výrobků Surgiderm je znázorněna na obrázku 14.

**Surgiderm 18** - využívá se pro vyplnění jemných vrásek, jako jsou vrásky kolem očí nebo periorální vrásky nad horním rtem a obsahuje 18 mg/ml HA.

**Surgiderm 24 XP** – je určen pro aplikaci do střední dermis pro vyhlazení středně hlubokých až hlubokých vrásek, pro ohraničení a obrys rtů, obsahuje 24 mg/ml HA.

**Surgiderm 30** – je určen pro aplikaci do hluboké dermis k vyplnění hlubokých vrásek, také ke zvýraznění objemu rtů a lících kostí. Obsahuje 24 mg/ml HA.

**Surgiderm 30 XP** – využívá se pro vyplnění středních a hlubokých vrásek a to injekcí do středních a/nebo hlubokých vrstev dermis, dále se používají pro zvětšení objemu, ohraničení a obrysu rtů. Obsah HA je také 24 mg/ml. [51]



Obrázek 14: Řada výrobků dermálních výplní Surgiderm [52]

## 4.8 Teosyal

Teosyal je řada dermálních výplní se zesíťovanou HA neživočišného původu, je biologicky vstřebatelná a rozložitelná. Své využití mají tyto produkty ve vyplnění vrásek, obnovení objemu, revitalizaci a hydrataci pokožky, prevenci tvorby vrásek, remodelaci lících kostí a zvětšení a modelaci objemu rtů. Mezi výhody těchto produktů patří snížená bolestivost při aplikaci díky obsaženému lidokainu, čistota gelů a s tím spojená vynikající snášenlivost s kůží, okamžitý výsledek s optimální a účinnou korekcí. Pozitivní je také dlouhotrvající účinek, kterého je dosaženo díky vysoké koncentraci HA a zvyšuje se s každou další apli-



kací. Trvanlivost může být až 18 měsíců. Patentovaná technologie použitá ve škále Teosyal má sníženou hladinu proteinových a bakteriálních endotoxinů, což má za následek snížení rizika přecitlivělosti. Na obrázku 15 je znázorněna série produktů Teosyal.

**Teosyal Deep Lines** - je aplikován do středně hluboké dermální vrstvy a je vhodný pro hluboké vrásky u nosu, zvětšení rtů a k úpravě kontur obličeje na tvářích a bradě. Koncentrace HA je 25 mg/ml.

**Teosyal First Lines** – je výplň vpichována do horních vrstev dermis a je vhodná na jemné a povrchové vrásky. Koncentrace HA je 20 mg/ml.

**Teosyal Global Action** – je aplikována do střední dermis, je vhodná pro střední vrásky, koncentrace HA je 25 mg/ml.

**Teosyal Kiss** – jde o vysoce viskózní produkt s vysokou plnicí schopností pro rty a je tedy vhodný především pro výplně rtů, korekci kontury rtů, výplně vrásek úst a pro podporu a rehydrataci ústních koutků. HA je obsažená o koncentraci 25 mg/ml.

**Teosyal Ultimate** – je aplikován do podkožní vrstvy a je vhodný pro remodelaci obličeje, zvětšování objemu v horní části tváře a ke korekci hlubokých kožních vrásek. Obsahuje HA o koncentraci 22 mg/ml.

**Teosyal Ultra Deep** – je vpichován do hluboké dermis, vyznačuje se vysokou hustotou, čímž se zajistí okamžité zvětšení objemu a je nejlepší pro obnovu objemu obličeje, úpravu kontur obličeje, pro vyplnění hlubokých vrásek, vyhlazení vrásek a obnovu původních křivek. Obsahuje 25 mg/ml HA. [51,53]



Obrázek 15: Řada produktů Teosyal [54]

## ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo objasnit problematiku kyseliny hyaluronové, jako látky, poskytující na základě své struktury a vlastností specifické účinky, kterých je využíváno v mnoha oblastech. Její využití je v současné době na vzestupu a má široké uplatnění zejména v kosmetickém průmyslu a estetické medicíně. Bakalářská práce je zaměřena především na dermální výplně měkkých tkání na bázi kyseliny hyaluronové, které jsou aplikovány za účelem zmírnění projevů stárnutí. Mezi tyto projevy lze zařadit tvorbu povrchových i hlubokých vrásek a ztrátu objemu v určitých partiích. Produkty jsou využívány také ke korekci jizev nebo ke zlepšení stavu pokožky.

Na trhu je dostupná široká škála produktů, které se liší svým elastickým modulem, velikostí částic a koncentrací HA a na základě toho jsou určeny pro konkrétní typ korekce. Bylo charakterizováno několik produktů a to Hylaform, Restylane, Juvéderm, Prevelle Silk, Prevelle Dura, Filorga, Surgiderm a Teosyal, přičemž má každý svou dermokosmetickou řadu. Na základě porovnání lze říct, že kromě Hylaformu, který je získáván z kohoutích hřebínků, jsou všechny produkty vyráběny biofermentací a jsou tedy neživočišného původu. Koncentrace HA je nejnižší u Hylaformu a Prevelle Silk, u kterých dosahuje hodnot kolem 5 mg/ml, kdežto u ostatních produktů se koncentrace pohybuje v rozmezí kolem 20 mg/ml. Při porovnání viskozity gelů je zřejmé, že největší viskozitu vykazuje Restylane a jedním z nejméně viskózních produktů je Hylaform, avšak každý výrobek řady náležící danému vybranému produktu má viskozitu jinou, proto ji nelze obecně určit. Významným kritériem je také doba, po kterou působí účinek po aplikaci výplně a bylo zjištěno, že nejkratší dobu působí Hylaform, jde o časové rozmezí 3–4 měsíců, kdežto nejdelší účinek byl zaznamenán u produktů Teosyal, u kterých se jedná až o 18 měsíců. Pro zmírnění bolestivosti při aplikaci je do výrobků přidáván lidokain, který je dle průzkumu obsažen v některých výrobcích řady Restylane a Juvéderm, dále v Prevelle Silk a Teosyal.

Na závěr lze konstatovat, že využívání produktů na bázi kyseliny hyaluronové je na vzestupu, protože touha žen o sebe pečovat a co nejvíce oddalovat projevy stárnutí stále roste.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

1. NECAS, J., BARTOSIKOVA L., BRAUNER, P., KOLAR, J. *Hyaluronic acid (hyaluronan): a review*. Veterinarni Medicina, 2008. s. 397–407.
2. KUO, J. W., SWANN, D. A., PRESTWICH, G. D. *Chemical modification of hyaluronic acid by carbodiimides*. 2. vydání. *Bioconjugate Chemistry*, 1991. s. 232.
3. KOGAN, Grigorij, ŠOLTÉS, Ladislav, STERN, Robert, GEMEINER, Peter. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnology letters* [online]. 2006-12-8, roč. 29, č. 1, s. 17–25 [cit. 2013-02-19]. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10529-006-9219-z>
4. PRESTWICH, G. D., VERCRUYSSSE, K. P. Profiles therapeutic applications of hyaluronic acid and hyaluronan derivatives. *Pharmaceutical science & technology today* [online]. 1998, roč. 1, č. 1 [cit. 2013-02-13]. ISSN 1461-5347. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S146153479800011X>
5. BERRY, M. G., NAVSARIA, H. A., PRICE, R. D. Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery* [online]. 2007, roč. 60, č. 10 [cit. 2013-02-27]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1748681507001805>
6. SCHANTÉ, C. E., ZUBER, G., HERLIN, C., VANDAMME, T. F. Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications. *Carbohydrate polymers* [online]. 2011-06-01, roč. 85, č. 3, s. 469–489 [cit. 2013-02-20]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861711002001>
7. DYLEVSKÝ, I. *Obečná kineziologie*. Grada Publishing a.s., 2007, ISBN 9788024716497, 190 stran.
8. KOOLMAN, J., RÖHM, K. H. *Barevný atlas biochemie*, 4. vydání. Grada Publishing a.s., 2012, ISBN 9788024729770, 498 stran.
9. KRPALOVÁ, Z. *Kyselina hyaluronová a její využití v medicíně a kosmetice*. Zlín, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky. Vedoucí bakalářské práce Věra Kašpárková.

10. STERN, R. Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway. *Eur Journal of Cell Biology* [online]. Elsevier, 2004, roč. 83, č. 7, s. 317–325 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0171933504704008>
11. LÜLLMANN-RAUCH, R. *Histologie*. Praha: Grada Publishing, 2012. 556 s. ISBN 978-80-247-3729-4.
12. MIO, K., STERN, R. Inhibitors of the hyaluronidases. *Matrix Biology* [online]. Elsevier, 2002, roč. 21, č. 1, s. 31–37 [cit. 2013-04-24]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0945053X01001858>
13. SEEBECK, P. Hyaluronic acid (Hyaluronan). *Teco medical group* [online]. 2009-05, [cit. 2013-02-22]. Dostupné z: <http://www.tecomedical.com/downloads/pdf/Hyaluron%20%28e%29%20%2810%29.pdf>
14. STERN, R. *Hyaluronan in cancer biology*. Academic Press, 2009. ISBN 9780080921082, 468 stran.
15. BALLADA, A., ZAIKOV, G. E., PETHRICK, R. A. *Handbook of polymer research: monomers, oligomers, polymers and composites*. Nova Publishers, 2007-10-01. Chap. 31. ISBN-10: 1-60021-651-X, ISBN-13: 978-1-60021-651-0.
16. Hyaluronic Acid: History, Chemical structure, and its benefits for the body [online]. [cit. 2013-02-25]. Dostupné z: [http://www.hyalogic.com/main/about\\_hyaluronic\\_acid](http://www.hyalogic.com/main/about_hyaluronic_acid)
17. BARREL, A. O., PAYE, M., MAIBACH, H. I. *Handbook of cosmetic science and technology*. 3. vydání. Informa Healthcare, 2009. s. 91-94. ISBN 978-1-4200-6963-1.
18. BALAZS, E. A. The physical properties of synovial fluid and the specific role of hyaluronic acid. *In disorders of the knee* [online]. 1974, [cit. 2013-02-22]. Dostupné z: <http://67.20.125.65/wp-content/uploads/2012/04/synovial-fluid.pdf>
19. LESLEY, J., HYMAN, R., ENGLISH, N., CATTERALL, J. B., TURNER, G. A. CD44 in inflammation and metastasis. *Glycoconjugate Journal* [online]. Chapman & Hall, 1997, 5, s. 611–622 [cit. 2013-04-24]. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1018540610858#page-2>
20. YAMAGUCHI, Y. *Lecticans: organizers of the brain extracellular matrix*. Cellular and Molecular Life Sciences, 2000. 57, s. 276–289.

21. MAIVALDOVÁ, I. *Kyselina hyaluronová a možnosti jejího využití*. Brno, 2008. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta Chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí bakalářské práce Jana Zemanová.
22. LITVIK, R., VANTUCHOVÁ, Y. Hypertrofické a keloidní jizvy pohledem dermatologa. *New EU Magazine of Medicine* [online]. 2011, 1–2, s. 15–17 [cit. 2013-04-25]. Dostupné z: [http://www.neumm.cz/public/img/neumm\\_11\\_01/02.pdf](http://www.neumm.cz/public/img/neumm_11_01/02.pdf)
23. ATALA, A., LANZA, R., NEREM, R., THOMSON, J. A. *Principles of regenerative medicine*. Boston: Elsevier Academic Press, 2011, 1472 s. ISBN 978-0-12-369410-2.
24. Chondrocyt [online]. [cit. 2013-03-05]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Chondrocyt>
25. JIN, Yu-Jin, UBONVAN, Termsarasab, KIM, Dae-Duk. Hyaluronic Acid in Drug Delivery Systems. *Journal of pharmaceutical investigation* [online]. 2010, roč. 40 [cit. 2013-03-12]. ISSN 0259-23472093-5552. Dostupné z: <http://img.kisti.re.kr/originalView/originalView.jsp>
26. AUZENNE, E., GHOSH, S. C., KHODADADIAN, M., RIVERA, B., FARQUHAR, D., PRICE, R. E., RAVOORI, M., KUNDRA, V., FREEDMAN, R. S., KLOSTERGAARD, J. Hyaluronic acid-paclitaxel: antitumor efficacy against CD44(+) human ovarian carcinoma xenografts. *Neoplasia* [online]. PubMed, 2007, 9, s. 479 [cit. 2013-04-29]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17603630>
27. BAUMANN, L. *Cosmetic dermatology: principles & practice*. 2. vydání. McGraw Hill Professional, 2008. s. 191–209. ISBN–10: 0071641289, ISBN–13: 9780071641289.
28. COHEN, S. R., BORN, T. M. *Facial rejuvenation with fillers*. Saunders, 2009. ISBN 978-0-7020-3089-5
29. PRENDERGAST, P. M., SHIFFMAN, M. A. *Aesthetic medicine: art and techniques*. Berlin: Springer, 2011. ISBN 978-3-642-20112-7.
30. ALAM, M., GLADSTONE, H. B., TUNG, R. C. *Cosmetic dermatology*. Saunders, 2009. ISBN 978-0-7020-3143-4.
31. ALAM, M., DOVER, J. S. *Non-surgical Skin tightening and lifting*. Saunders, 2008. ISBN 978-1-4160-5960-8.

32. JONES, D. *Injectable fillers: principles and practice*. 1. vydání. Willey-Blackwell, 2010. ISBN 978-1-4051-9289-7, 192 stran.
33. SMALL, R., HOANG, D. *A practical guide to dermal filler procedures*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012, 176 stran.
34. SHIFFMAN, M. A., GIUSEPPE, A. D. *Cosmetic Surgery: Art and Techniques*. Springer, 2013. ISBN 978-3-642-21836-1, 1192 stran.
35. DHALIWAL, J., FRIEDMAN, O. Injectables and fillers in male patients. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America* [online]. Elsevier, 2008, roč. 16, č. 3, s. 345–355 [cit. 2013-03-18]. Dostupné z:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1064740608000187>
36. Injection technique [online]. [cit. 2013-03-20]. Dostupné z:  
<http://www.emervel.co.uk/professionals/support/training/injection-technique/>
37. *Essederm* [online]. [cit. 2013-04-7]. Dostupné z:  
<http://www.dibipraha.cz/ESSEDERM/deep.html>
38. ANDRE, P. Hyaluronic acid and its use as a "rejuvenation" agent in cosmetic dermatology. *Seminars in cutaneous medicine and surgery* [online]. 2004, roč. 23, č. 4 [cit. 2013-03-18]. ISSN 10855629. Dostupné z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1085562904000434>
39. NOURI, K. *Dermatologic surgery: step by step*. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 978-1-4443-3067-0.
40. Aesthe Med. *Restylane výplně* [online]. [cit. 2013-03-24]. Dostupné z:  
<http://www.aesthe-med.cz/?clanek=75>
41. Royal Clinics. *Restylane* [online]. [cit. 2013-04-16]. Dostupné z:  
<http://www.royalclinics.sk/restylane-skraslujuci-lifting.xhtml>
42. *Juvéderm Ultra* [online]. [cit. 2013-03-24]. Dostupné z:  
[http://www.allergan.com/assets/pdf/juvederm\\_ultra\\_patient\\_labeling.pdf](http://www.allergan.com/assets/pdf/juvederm_ultra_patient_labeling.pdf)
43. *Juvéderm Ultra XC* [online]. [cit. 2013-03-24]. Dostupné z:  
[http://www.allergan.com/assets/pdf/juvederm\\_ultra\\_xc\\_patient\\_labeling.pdf](http://www.allergan.com/assets/pdf/juvederm_ultra_xc_patient_labeling.pdf)
44. Royal Clinics. *Produkty Juvéderm* [online]. [cit. 2013-04-17]. Dostupné z:  
<http://www.royalclinics.sk/juvederm-liecba-vrasok.xhtml>
45. Filorga. *Laboratoires Filorga Česká a Slovenská republika* [online]. [cit. 2013-03-27]. Dostupné z: <http://www.filorga.cz/filorga/filorga-cr-a-sr>

46. Filorga. *XHA-3* [online]. [cit. 2013-04-1]. Dostupné z: <http://www.filorga.cz/produkty/dermalni-vyplne/xha-3>
47. Filorga. *XHA-VOLUME* [online]. [cit. 2013-04-3]. Dostupné z: <http://www.filorga.cz/produkty/dermalni-vyplne/xha-volume>
48. Filorga. *M-HA-18* [online]. [cit. 2013-04-3]. Dostupné z: <http://www.filorga.cz/produkty/dermalni-vyplne/m-ha-18>
49. Filorga. *M-HA-10* [online]. [cit. 2013-04-6]. Dostupné z: <http://www.filorga.cz/produkty/dermalni-vyplne/m-ha-10>
50. Elizabeth. *Filorga* [online]. [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <http://elizabeth-gk.blogspot.cz/>
51. Reaesthetic. *Aesthetics wholesale product range* [online]. [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: <http://www.re-aesthetic.com/Dermal-filler/>
52. Pharmalogical. *Surgiderm* [online]. [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: [http://www.pharmalogicalinc.com/cfwebstore/index.cfm?fuseaction=product.display&Product\\_ID=11](http://www.pharmalogicalinc.com/cfwebstore/index.cfm?fuseaction=product.display&Product_ID=11)
53. Laboratories Teoxane Geneva. *Teoxane products* [online]. [cit. 2013-04-13]. Dostupné z: <http://teoxane.com/uk-homepage#/injected-products>
54. Clarion medici technologies. *Products* [online]. [cit. 2013-04-14]. Dostupné z: [http://www.clarionmedical.com/dermalfillers/teosyal/the\\_products.html](http://www.clarionmedical.com/dermalfillers/teosyal/the_products.html)

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

HA	Hyaluronic acid. Kyselina hyaluronová.
GAG	Glykosaminoglykany.
HAS1	Hyaluronan syntáza 1.
HAS2	Hyaluronan syntáza 2.
HAS3	Hyaluronan syntáza 3.
NMF	Natural Moisturizing Factor.
SC	Stratum corneum.
UV	Ultrafialové záření.
ECM	Extracelulární matrix.
CD44	Glykoproteinový receptor HA vyskytující se na povrchu buněk.
TSG6	Člen proteinových receptorů schopný vázat HA.
GHAP	Gliový protein schopný vázat HA.
LYVE-1	Receptor HA nacházející se na stěně lymfatických cév.
RHAMM	Receptor HA zprostředkovávající buněčnou mobilitu.
EGF	Endoteliální růstový faktor.
PGA	Polylaktidová kyselina.
EFA	Efektivní HA.
FDA	Food and drug administration.
BDDE	1,4-butandiol diglycidyl ether.
DVS	Divinyl sulfon.
BCDI	Biscarbodiimid.
DEO	1, 2, 7, 8 diepoxyoctan.
G'	Elastický modul.



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obrázek 1: List kyseliny hyaluronové, na jehož jeden konec byla aplikována voda [5] .....</i>	13
<i>Obrázek 2: Chemická struktura kyseliny hyaluronové [6] .....</i>	14
<i>Obrázek 3: Konjugované a zesíťované polymery [6].....</i>	15
<i>Obrázek 4: Lineární technika aplikace HA [35].....</i>	33
<i>Obrázek 5: Technika sériových vpichů při aplikaci HA [36] .....</i>	34
<i>Obrázek 6: Aplikace HA vějířovou technikou [35].....</i>	34
<i>Obrázek 7: Mřížková technika aplikace HA [35] .....</i>	35
<i>Obrázek 8: Aplikace do střední dermis [40].....</i>	40
<i>Obrázek 9: Aplikace do hluboké dermis [40] .....</i>	41
<i>Obrázek 10: Aplikace do hluboké subkutánní vrstvy a suprapariostálně [40].....</i>	41
<i>Obrázek 11: Série produktů od Restylane [41].....</i>	42
<i>Obrázek 12: Řada produktů Juvéderm [44] .....</i>	44
<i>Obrázek 13: Řada produktů dermálních výplní Filorga [50].....</i>	46
<i>Obrázek 14: Řada výrobků dermálních výplní Surgiderm [52].....</i>	47
<i>Obrázek 15: Řada produktů Teosyal [54].....</i>	48

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tabulka 1: Koncentrace HA v živočišných tkáních a tekutinách [9,15,21].....</i>	19
<i>Tabulka 2: Porovnání vybraných vlastností jednotlivých produktů .....</i>	39