

# Utjecaj topikalne primjene hijaluronske kiseline na izgled i zdravlje kože

---

Trivunović, Sanja

Professional thesis / Završni specijalistički

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:592368>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO – BIOKEMIJSKI FAKULTET

Sanja Trivunović

**UTJECAJ TOPIKALNE PRIMJENE HIJALURONSKE  
KISELINE NA IZGLJED I ZDRAVLJE KOŽE**

Specijalistički rad

Zagreb, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO – BIOKEMIJSKI FAKULTET

Sanja Trivunović

**UTJECAJ TOPIKALNE PRIMJENE HIJALURONSKE  
KISELINE NA IZGLJED I ZDRAVLJE KOŽE**

Specijalistički rad

Zagreb, 2022.

PSS studij: Dermatofarmacija i kozmetologija

Mentor rada: prof. dr. sc. Marijana Zovko Končić

Specijalistički rad obranjen je dana 05.09.2022. , u Zavodu za farmakognoziju pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Željka Vanić
2. prof. dr. sc. Marijana Zovko Končić
3. nasl. doc. dr. sc. Ines Sjerobabski Masnec

Rad ima 45 listova.

Ovaj specijalistički rad izrađen je pod mentorstvom i stručnim vodstvom prof. dr. sc. Marijane Zovko Končić u sklopu projekta Ekstrakcija bioaktivnih biljnih sastavnica pomoću zelenih otapala – korak prema zelenim kozmeceuticima (IP-2018-01-6504) Hrvatske zaklade za znanost. Rad je prijavljen na Farmaceutsko – biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

*U specijalističkom radu opisana je primjena hijaluronske kiseline, ne samo njezin utjecaj na ljepotu, već i na zdravlje kože te blagotvorno djelovanje na organizam.*

*Velika zahvala mentorici prof. dr. sc. Marijani Zovko Končić koja me je savjetovala prilikom izrade ovog teorijskog specijalističkog rada te mojoj obitelji koja mi pruža najveću potporu u svim mojim novim idejama, projektima i usavršavanjima.*

## **SAŽETAK**

### **Cilj istraživanja**

Hijaluronska kiselina (HA) je hidrofilni polisaharid glikozaminoglikanske strukture koji igra višestruku ulogu u regulaciji različitih bioloških procesa i održavanju homeostaze u tijelu. Cilj ovog specijalističkog rada je procjena utjecaja topikalne primjene HA na izgled i zdravlje kože.

### **Materijali i metode**

Za potrebe izrade ovog teorijskog specijalističkog rada, pretražene su baze podataka znanstvenih radova te drugi znanstveni izvori i mrežne stranice sa srodnom tematikom. Pretraživanjem su se obuhvatile kliničke studije koje su ispitale učinak HA na procese koji utječu na izgled i zdravlje kože te *in vitro* i *in vivo* studije koje objašnjavaju mehanizme opaženih učinaka.

### **Rezultati**

Zbog svojih higroskopnih značajki HA djeluje hidratantno, usporava starenje kože, ubrzava zacjeljivanje opekline i drugih rana. Veličina molekula HA značajno utječe na dubinu njezine penetracije u kožu, kao i *antiaging* svojstva topikalnih hijaluronskih pripravaka. HA značajno povećava hidrataciju kože, a pozitivno utječe i na elastičnost i tonus kože te smanjenje bora. Tehnološkim postupcima poput mikronizacije, uklapanjem u liposome i nanočestice te kombinacijom s glicerolom, ekstraktom vrste *Centella asiatica*, *N*-acetil glukozaminom, gama-amino maslačnom kiselinom te ljudskim faktorom rasta može se povećati učinak HA na izgled i zdravlje kože. U kliničkim studijama HA se pokazala učinkovitom u zacjeljivanju različitih vrsta rana poput opekline, dijabetičkog ili venskog ulkusa, a dobar učinak HA na zacjeljivanje rana uočen je i u kombinaciji HA sa srebro-sulfatiazinom ili ionima srebra. Nekoliko studija je potvrdilo da topikalna primjena HA niske molekularne mase, rezultira poboljšanjem simptoma dermatitisa, rozacee i strija.

### **Zaključak**

Topikalna primjena HA doprinosi zdravlju kože i usporava proces starenja. HA pokazuje blagotvorne i pozitivne učinke u terapiji brojnih kožnih bolesti i stanja. Brojne studije potvrđuju učinkovitost HA u kozmetičkoj i dermatološkoj primjeni.

**Ključne riječi:** hijaluronska kiselina, hijaluronat, koža, topikalna primjena, zdravlje kože.



## **SUMMARY**

### **Objectives**

Hyaluronic acid (HA) is a hydrophilic polysaccharide of glycosaminoglycan type that plays various roles in human organism, including regulation of various biological processes and maintenance of homeostasis. The aim of this specialist paper is to assess the impact of topical application of HA on the appearance and health of the skin.

### **Material and methods**

For the purposes of preparing this theoretical specialist paper, scientific databases papers and other with scientific sources and web sites with related topics were searched. The study included clinical studies examining the effect of HA on processes affecting skin appearance and health, as well as *in vitro* and *in vivo* studies explaining the mechanisms of the observed effects.

### **Results**

Due to its hygroscopic features, HA acts as moisturizer, slows down the aging of the skin, and accelerates the healing of burns and other wounds. The size of HA molecules significantly affects the depth of its penetration into the skin, as well as the antiaging characteristics of topical hyaluronic preparations. HA significantly increases skin hydration and has a positive effect on skin elasticity and tone, as well as wrinkle reduction. Technological procedures such as micronization, encapsulation in liposomes or nanoparticles as well as combination with glycerol, *Centella asiatica* extract, *N*-acetyl glucosamine, gamma-amino butyric acid and human growth factor may increase the effect of HA on skin appearance and health. In clinical studies, HA has proven to be an effective agent for healing of several types of wounds such as burns, diabetic or venous ulcers. Beneficial effect of HA on wound healing has also been observed in combination of HA with silver sulfadiazine or silver ions. Several studies have confirmed that topical use low molecular weight HA results in an improvement in the symptoms of dermatitis, rosacea and stretch marks.

### **Conclusion**

Topical use of HA contributes to skin health and slows down the aging process. HA shows beneficial and positive effects in the therapy of numerous skin diseases and conditions. Numerous studies confirm the effectiveness of HA in cosmetic and dermatological application.



**Key words:** hyaluronic acid, hyaluronate, skin, topical application, skin health.

## SADRŽAJ

<b>SAŽETAK.....</b>	<b>I</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>III</b>
<b>1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>1</b>
1.1. POVIJEST PRIMJENE HIJALURONSKE KISELINE .....	1
1.2. HIJALURONSKA KISELINA I NJEZINA SVOJSTVA.....	2
1.3. SINTEZA I RAZGRADNJA HIJALURONA U LJUDSKOM ORGANIZMU .....	3
1.4. BIOLOŠKE ULOGE HIJALURONSKE KISELINE .....	4
1.5. IZVORI HIJALURONSKE KISELINE .....	6
<b>2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>7</b>
<b>3. MATERIJAL I METODE .....</b>	<b>8</b>
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>9</b>
4.1. PENETRACIJA HIJALURONSKE KISELINE U DUBLJE SLOJEVE KOŽE .....	9
4.2. HIDRATACIJA, IZGLED I STARENJE KOŽE .....	10
4.3. ZACJELJIVANJE RANA .....	17
4.4. OPEKLINE .....	24
4.5. AKUTNE KOŽNE REAKCIJE NA RADIOTERAPIJU .....	25
4.6. SEBOROIČNI DERMATITIS .....	27
4.7. ROZACEA, STRIJE I OŽILJCI .....	29
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>31</b>
<b>6. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>34</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>35</b>
<b>8. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>45</b>

## 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

Porastom životnog vijeka, raste udio starijeg stanovništva u ukupnoj populaciji. Zato se sve više traže postupci kojima se mogu spriječiti ili ublažiti zdravstveni probleme koji se ubrzavaju sa starosnom dobi, uključujući kožne bolesti, ali i izgleda kože. Znanstvena istraživanja pokazuju da postoje brojni biološki aktivni sastojci s djelovanjem na strukturu i teksturu kože, a jedan od njih je i HA. HA iznimno je značajna jer zadržavajući vodu, vraća koži njezinu vlažnost što rezultira nježnom, glatkom te sjajnom kožom. Zbog izuzetnog biomedicinskog potencijala u regeneraciji tkiva, HA se često koristi kao jedan od osnovnih sastojaka kozmetičkih proizvoda.

Zbog prirodne rasprostranjenosti ovog bipolimera u ljudskom tijelu, njegove biorazgradivosti te biokompatibilnosti, našao se u fokusu niza istraživanja. Mnogobrojne studije istraživale su kozmetičke i nutrikozmetičke učinke HA kojima je utvrđeno da pripravci HA pokazuju izvanrednu djelotvornost u liječenju širokog spektra oštećenja kože te usporavanju procesa njezina starenja. Međutim, nedostaje kritička ocjena različitih formulacija HA za pojedinu vrstu oštećenja kože i potvrda o sigurnosti i biokompatibilnosti HA u pomlađivanju kože.

### 1.1. POVIJEST PRIMJENE HIJALURONSKE KISELINE

Karl Meyer i njegov kolega John Palmer su 1934. godine otkrili i izolirali HA iz staklenog tijela očiju krave. U 50-im godinama prošlog stoljeća opisali su da je HA građena od D-glukouronske kiseline i D-N-acetilglukozamina (1). U vrijeme otkrića, Meyer i Palmer nisu bili svjesni da su otkrili jednu od najzanimljivijih i najkorisnijih prirodnih makromolekula (2).

Prvi put je korištena u komercijalne svrhe 1942. godine kada je Endre Balazs podnio zahtjev za patent u kojem koristi HA kao zamjenu za bjelanjke u pekarskim proizvodima (3). Prva biomedicinska primjena dogodila se krajem 1950-ih kada je HA korištena kao zamjena staklenog tijela tijekom operacije oka. Za medicinsku primjenu je u početku izolirana iz pupčanih vrpca, a kasnije i iz drugih izvora. Ispočetka je izolirana kao kiselina, ali je u fiziološkim uvjetima prisutna kao sol, natrijev hijaluronat. Takve strukturne i biološke karakteristike kasnije su se istraživale u mnogim laboratorijima (1).

Za HA se često koristi i naziv hijaluronan, koji je prvi puta predstavljen 1986. godine, a pripisuje se Endreu Balazsu. On ga je osmislio da bi mogao obuhvatiti različite oblike koje molekula može imati, npr. kiselinski oblik (HA) i oblik soli (natrijev hijaluronat) koji se formira pri fiziološkom pH (3).

## 1.2. HIJALURONSKA KISELINA I NJEZINA SVOJSTVA

HA ili hijaluron je nesulfatni glikozaminoglikan koji je sastavljen od ponavljajućih jedinica disaharida D-glukoronske kiseline i *N*-acetil-D-glukozamina povezanih naizmjeničnim (1→4) i β-(1→3) glikozidnim vezama (4). Kad su oba monosaharida u β konfiguraciji, formira se vrlo stabilna energetska struktura, jer je tad svaka velika funkcionalna skupina u povoljnom steričkom ekvatorijalnom položaju, dok svaki mali atom vodika zauzima energetski manje povoljan aksijalni položaj (5). U vodenoj otopini, HA ima izgled dvostruke zavojnice. HA može biti sastavljena i do 25.000 disaharidnih jedinica (4). HA je prilično stabilna, dijelom i zbog načina na koji su povezane njezine disaharidne komponente. HA može apsorbirati veliku količinu vode, čak nekoliko tisuća puta veću od svoje težine, pri čemu poprima strukturu gela. Molekularna težina HA iz različitih izvora je vrlo varijabilna. Za razliku od ostalih glikozaminglikana koji su relativno male veličine, hijaluron može dosegnuti vrlo visoku molekularnu težinu od 10<sup>5</sup> kDa (6-8).

Otopine HA u vodi karakterizira ne-Newton-ovo viskoelastično te pseudoplastično ponašanje. Pseudoplastični profil HA posljedica je kidanja međumolekularnih vodikovih veza i hidrofobnih interakcija prilikom miješanja. Pri tom se lanci HA deformiraju i usklađuju što rezultira smanjenjem viskoznosti (9, 10). Uz to, otopina HA nije tiksotropna otopina, što znači da, kako se stopa smicanja smanjuje i završava, dolazi do oporavljanja izvorne strukture i viskoznosti, što se odvija kroz ista intermedijarna stanja procesa razgradnje (11). Dakle, razgradnja polimerne mreže je prolazna i reverzibilna. Ovo jedinstveno reološko ponašanje je iznimno važno, jer određuje mnoge fiziološke uloge hijalurona te njegovu farmaceutsku, medicinsku, prehrambenu i kozmetičku primjenu (12, 13).

### 1.3. SINTEZA I RAZGRADNJA HIJALURONA U LJUDSKOM ORGANIZMU

HA se proizvodi na unutarnjem dijelu plazmatske membrane bez kovalentnih veza s proteinskom jezgrom (14). U ljudskom tijelu, hijaluron se sintetizira kao slobodni linearni polimer uz pomoć tri hijaluron-sintaze (HAS), a to su: HAS1, HAS2 i HAS3, čija su katalitička mjesta smještena na unutrašnjoj strani stanične membrane. Hijaluronski lanci koji rastu, se istiskuju na površinu stanice ili u ekstracelularni matriks kroz staničnu membranu i hijaluron-sintetaza proteinski kompleks (15,16). Hijaluron-sintetaze (HAS) imaju različita biokemijska i sintetska svojstva (17).

HAS1 je najmanje aktivni izoenzim i proizvodi hijaluron visoke molekularne težine (od  $2 \times 10^5$  do  $2 \times 10^6$  Da) (17). HAS2 je aktivniji i sintetizira hijaluronske lance veće od  $2 \times 10^6$  Da (18). On predstavlja glavni sintetički enzim hijalurona u normalnim stanicama odraslih osoba. HAS2 također regulira razvojne i reparacijske procese rasta tkiva i može biti uključen u proces upale, razvoja raka, plućnoj fibrozi, keloidima (18-22). HAS3 je najaktivniji izoenzim i stvara molekule hijalurona s molekularnom težinom manjom od  $3 \times 10^5$  Da (8). Pogrešna regulacija ekspresije gena hijaluron-sintetaze rezultira abnormalnom proizvodnjom hijalurona i prema tome, dolazi do povećanog rizika od patoloških događanja, promijenjenih reakcija stanica na ozljede i nepravilnosti u biološkim procesima poput maligne transformacije i metastaziranja (23-26).

Razgradnja HA u ljudskom tijelu postiže se putem dva različita mehanizma: jedan je specifičan, posredovanjem hijaluronidaza, dok je drugi nespecifičan, određen oksidativnim oštećenjima zbog reaktivnih vrsta kisika (ROS) (14, 27). Hijaluronidaze imaju ključnu regulatornu funkciju u metabolizmu hijalurona te razgrađuju većinu tog glikozaminoglikana (28). Zajedno, hijaluronidaze i ROS lokalno utječu na razgradnju približno 30% hijalurona, od 15 g hijalurona prisutnog u ljudskom tijelu. Preostalih 70% sustavno se katabolizira tako što se hijaluron limfom prenosi u limfne čvorove gdje se katabolizira u endotelnim stanicama limfnih žila (14, 27). Mali dio hijalurona putem krvotoka dopire do jetre gdje se razgrađuje u endotelnim stanicama (25).

#### 1.4. BIOLOŠKE ULOGE HIJALURONSKE KISELINE

Hijaluron je ključna molekula koja sudjeluje u nizu fizioloških i patoloških procesa, a uključen je u očuvanje strukture i funkcionalnosti vezivnog tkiva, kao i njegovu zaštitu od čimbenika iz okoliša (29). Tako HA ima značajnu ulogu u sintezi molekula izvanstaničnog matriksa i interakciji epidermalnih stanica s vanjskom okolinom. HA modulira stanični imunitet sprječavanjem infekcija i sprječavanjem alergijskih reakcija (30).

Poznato je da HA održava vlažnost kože, modulira stanični imunitet sprječavanjem infekcija i alergijskih reakcija (30), ubrzava zacjeljivanje rane i proces ponovne epitelizacije (31). Međutim, unatoč dosad provedenim intenzivnim studijama, biološka uloga hijalurona još nije u potpunosti rasvijetljena (32). Poznato je da HA može djelovati kao pasivna strukturalna, ali i kao signalna molekula (19, 33). Pasivni mehanizam povezan je s fizikalno-kemijskim svojstvima visokomolekularne HA. Tako je HA sposoban modulirati hidrataciju tkiva, osmotsku ravnotežu i fizikalna svojstva ekstracelularnog matriksa i time stabilizirati izvanstanični prostor u kojemu su stanice, kolagen, elastin te druge komponente (16, 19, 29). S druge strane, signalna uloga HA vezana je uz proteine koji s njom stupaju u interakcije, takozvane hijaladherine. Među njima se mogu razlikovati proteoglikani koji vežu HA (izvanstanični ili matriksni hijaladherini) i hijaluronski receptori na površini stanice (stanični hijaladherini) (33). Među hijaladherinima razlikujemo agrekane u hrskavici, neurokane u središnjem živčanom sustavu i versikane u različitim mekim tkivima (17).

Uloga HA u organizmu ovisi i o njezinoj molekularnoj masi. Poznato je da izvanstanični hijaluron velike molekularne mase ( $\geq 10^6$  Da) ima antiangiogeni učinak, jer je u stanju inhibirati rast endotelnih stanica (17, 33, 34). Hijaluron visoke molekularne težine, također ima važnu ulogu u upali, ozljedi i reparaciji tkiva te zacjeljivanju rana, jer veže fibrinogen i kontrolira privlačenje upalnih stanica kao i raznih upalnih citokina (17, 34, 35). S druge strane, hijaluron niske molekularne težine može potaknuti proizvodnju protuupalnih citokina te promicati remodeliranje ekstracelularnog matriksa (25). Štoviše, hijaluron niske molekularne težine, također može potaknuti napredovanje tumora inducirajući remodeliranje ekstracelularnog matriksa (36). Molekularna masa i okolnosti sinteze i razgradnje HA, ključni su čimbenici koji definiraju njezin biološki učinak (25, 26, 33), a za uspostavljanje i održavanje ravnoteže sinteze i razgradnje hijalurona bitna je ne samo količina HA, već i njezina molekularna masa (32).

## 1.5. IZVORI HIJALURONSKE KISELINE

HA se u prehrani nalazi u relativno malim količinama, a prisutan je u namirnicama životinjskog porijekla. Dodaci prehrani i kozmetički proizvodi uglavnom koriste HA koja se dobiva biotehnološkim putem. Postoje različiti načini za povećanje produkcije HA u organizmu. Tako povećanje unosa soje potencira sklonost produkciji estrogena u tijelu, a samim time i HA. Magnezij je neophodan za sintezu HA, tako da nedostatak magnezija u prehrani može biti dio uzroka njezine niske razine (37). Niske razine HA također su pronađene u osoba s niskom razinom cinka (38, 39).

Globalno tržište hijalurona 2016. godine iznosilo je 7,2 milijarde USD, a očekuje se da će doseći vrijednost 16,6 milijarde USD do 2027. godine (39). Zapravo, interes za hijaluronom eksponencijalno raste u farmaceutskoj, medicinskoj, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji zbog njegovih bioloških učinaka (protuupalna i imunosupresivna svojstva te zacjeljivanje rana), mehaničkih svojstava (mukoadhezivnosti, higroskopnosti, viskoelastičnosti i mazivosti) te biokompatibilnosti, biorazgradljivosti i neimunogenosti (39).

Prvi proizvodni postupak primijenjen u industrijskim razmjerima, sastojao se od ekstrakcije hijalurona iz životinjskih izvora, poput govedeg staklastog tijela i krijeste pijetla (6, 40, 41). Jedan od nedostataka životinjskog hijalurona je bio i rizik biološke kontaminacije, prisutnost proteina, nukleinskih kiselina i virusa, ali i visoki troškovi pročišćavanja (6, 40, 41). Stoga su razvijene alternativne, biotehnološke, metode za industrijsku proizvodnju hijalurona iz mikroorganizama. Tako dobiveni komercijalni hijaluron je kompatibilan s ljudskim organizmom (40, 42).



## 2. CILJ ISTRAŽIVANJA

HA je mukopolisaharid koji se prirodno nalazi u ljudskom organizmu. Biološke funkcije HA uključuju održavanje elastičnosti tekućeg vezivnog tkiva, regulaciju hidratacije tkiva, a HA ima i brojne uloge u staničnoj diobi, migraciji i upali. Izvrsne hidratacijske značajke i brojni biološki učinci doveli su do sve veće raširenosti uporabe HA u kozmetičkim i dermatološkim proizvodima. Mnogobrojne studije istraživale su kozmetičke i nutrikozmetičke učinke HA te je pronađeno da pripravci na bazi HA, pokazuju izvanrednu djelotvornost u liječenju širokog spektra oštećenja kože te usporavanju procesa njezina starenja. Međutim, nedostaje kritička ocjena različitih formulacija HA za pojedinu vrstu oštećenja kože i potvrda o sigurnosti i biokompatibilnosti HA za pomlađivanje kože. Cilj ovog specijalističkog rada je procjena utjecaja topikalne primjene HA na izgled i zdravlje kože. Rad će objediniti rezultate studija o utjecaju HA na izgled kože, prevenciju njezinog starenja te objasniti ulogu hijalurona u liječenju određenih bolesti kože poput seboroičnog dermatitisa, rozacee, celulita, strija, ožiljaka, opekline te u zacjeljivanju rana.

### 3. MATERIJALI I METODE

Tijekom pisanja specijalističkog rada, pretražena je elektronička baza podataka *Medline* (sučelje *PubMed*). Upisivanjem ključnih riječi („*topical*“, „*hyaluronic acid*“, „*skin*“), dobiveno ukupno 344 rezultata. Nakon filtriranja radova koji imaju dostupan cjeloviti tekst („*Free full text*“), prikaz rezultata je sužen na 96 radova. U rad su uključene sve publikacije koje su se odnosile na topikalnu primjenu HA na kožu te koji su odgovarale tematici specijalističkog rada. Studije koje su ispitivale utjecaj HA u terapiji odabranih kožnih oboljenja dodatno su pretražene navođenjem specifičnih ključnih riječi (primjerice „*hyaluronic acid*“, „*seborrheic dermatitis*“), s uključenim filterom „*Free full text*“. U rad su uključene studije s dostupnim cjelovitim tekstom, a u manjem opsegu i publikacije koje su imale dostupan samo sažetak. Znanstveni radovi koji su se koristili kao izvor informacija za ovaj teorijski specijalistički rad, bili su isključivo na engleskom jeziku.

## 4. REZULTATI

### 4.1. PENETRACIJA HIJALURONSKE KISELINE U DUBLJE SLOJEVE KOŽE

Mladenačka koža je dobro hidratizirana jer sadrži velike količine hijalurona u *dermisu*. Međutim, kako starimo, količina hijalurona u koži pada te se smanjuje na 5 % od početne vrijednosti. Kreme s hijaluronom za topikalnu primjenu široko su dostupne, ali njihova je učinkovitost ograničena, prvenstveno nedostatkom sposobnosti prodiranja hijalurona kroz kožu zbog veličine molekula hijalurona. Kada se hijaluron topikalno nanese na kožu, on većim dijelom ostaje na njezinoj površini i funkcionira kao hidratacijsko sredstvo (43). Izazov vezan uz topikalnu primjenu HA kao sredstva protiv starenja je ta što su njegove molekule promjera 3.000 nm, dok je međustanični prostor veličine 15 do 50 nm te samo 6 do 10 nm na hijalinoj membrani (*stratum lucidum*) (30). Upravo iz tog razloga, dosadašnji konvencionalni hijaluronski proizvodi nisu mogli prodrijeti u duboki sloj *dermisa*. Donedavno su se invazivne metode, poput biorevitalizacije i mezoterapije, smatrale jedinim načinom prenošenja hijalurona preko kožne barijere. Znanstvenici iz laboratorija *Forlle'd* u Japanu, uspjeli su smanjiti veličinu molekula HA bez narušavanja sastavne strukture podjedinice na veličinu od samo 5 nm, što omogućuje hijaluronu da prođe kožnu barijeru (30).

Istraživanje Sterna i sur. (2018) provodilo se *in vitro*, *ex vivo* i *in vivo*. Promatralo se kako veličina molekula hijalurona utječe na dubinu njegove penetracije u kožu, kao i *antiaging* svojstva topikalne hijaluronske kreme za lice, koja je formulirana kao mikronizirana molekula hijalurona. Dio studije bio je proveden *ex vivo* i njime je procijenjen prolazak hijalurona kroz kožu, primjenom tri različite formulacije HA kroz svinjsku kožu tijekom pet sati. Istraživanje se radilo na tri formulacije: Formulacija 1: HA visoke molekulske težine (HMW) u osnovnoj kremi; Formulacija 2: HA niske molekularne težine (LMW) (50 kDa) u osnovnoj kremi; Formulacija 3: mikronizirani hijaluron u osnovnoj kremi (28).

Veličina čestica mikroniziranog hijalurona procjenjivala se uz pomoć elektronske mikroskopije, koja je pokazala različite veličine čestica, od kojih je najmanja bila promjera 100 nm. Antioksidacijska sposobnost mikroniziranog hijalurona izmjerena je uz pomoć elektronske spin rezonancije te je utvrđeno da je veća od izvornog hijalurona. Prisutnost hijalurona u slojevima kože, praćena je označavanjem molekula hijalurona fluorescentnim biljezima. Imunohistokemijskim bojanjem uzoraka svinjske kože, dokazan je prodor formulacije u *stratum corneum* i duboke slojeve *epidermisa* prema *dermisu*. Rezultati su pokazali da je najslabiji prodor u rožnati sloj kože zabilježen kod formulacije s hijaluronom visoke molekularne težine, dok je najjači prodor zabilježen s formulacijom koja je sadržavala mikronizirani hijaluron. Zaključeno je da topikalna primjenjena HA za lice s mikroniziranim hijaluronom dobro prodire u epidermalni sloj kože (28).

#### 4.2. HIDRATACIJA, IZGLED I STARENJE KOŽE

HA djeluje kao biološki ovlaživač koji pridonosi turgoru i fleksibilnosti zdrave kože koji pokazuje pozitivne učinke na kožu i funkciju zaštitne barijere kože. Stoga se HA već dugokoristi u raznim proizvodima protiv starenja. U tim proizvodima hijaluron je klasificiran premasvojoj molekularnoj masi. Poznato je da hijaluron mase < 200 kDa aktivno sudjeluje usignalizaciji stanica kože i time utječe na izvanstanični matriks. Hijaluron utječe i na rast keratinocitnih stanica koje štite *epidermis* od starenja. Hijaluronske molekule veće molekularnemase, 1000 do 1500 kDa, ostaju na površini kože i nisu u mogućnosti prodrijeti u rožnati sloj, dok je nisko molekularni hijaluron molekularne težine od 20 do 300 kDa sposoban prodrijeti udublje slojeve kože (44). Haeusler je u studiji iz 2015. ispitaio formulacije smjese molekula HA različite molekularne težine u obliku gela. Ovaj je gel testiran *in vivo* na 10 ženskih osoba u dobi između 40-60 godina u razdoblju od 4 tjedna. Također je formuliran i primijenjen drugi gel u kojem se koristila HA najmanje molekularne mase, koja je bila uklopljena u lecitinske liposome.

Upotreba liposoma trebala je poboljšati prodiranje hijalurona kroz *stratum corneum* i usporiti proces razgradnje hijalurona u koži uzrokovane enzimom hijaluronidazom. Formulacije su sadržavale oko 2,5 % HA, a u studiji su primjenjivane svaka na jednu polovinu lica. U istraživanju su mjereni parametri hidratacije kože, sadržaja vode u *stratum corneumu*, elastičnost i čvrstoća kože te hrapavost kože koja se ispitala optičkom metodom. Sva mjerenja obavljena su prije i nakon primjene hijaluronskog gela. Nakon 4 tjedna svi su mjereni parametri bili poboljšani. Hidratacija kože porasla je za 20,7 % za gel i 22,2 % za gel koji je sadržavao liposome. Također je zapažen pozitivan učinak na elastičnost kože nakon nanošenja hijalurona različite molekulske mase. Najveći učinak na elastičnost kože izmjeren je kod primjene hijaluronskog gela od 130 kDa te gela koji je sadržavao nisko molekularni hijaluron (50 kDa). Gelovi korišteni u ovoj studiji zbog velikog sadržaja hijalurona male molekularne težine, smanjili su i hrapavost kože (45).

U studiji Draelosa i sur. (2021) ispitala se sposobnost hijaluronskog seruma da hidratizira kožu na 40 žena u dobi od 30–65 godina s Fitzpatrickovim tipom kože I – VI, kod kojih je utvrđeno fotostarenje kože. Ispitanice su nanosile hijaluronski serum na lice dva puta dnevno s kremom za sunčanje. Istraživači su procjenjivali glatkoću kože, njezinu hidrataciju te fine linije i bore. Ispitanice su procjenjivale podnošljivost proizvoda u smislu peckanja i svrbeža. Provedena je i korneometrija, odmah nakon nanošenja hijaluronskog seruma te u 2., 4. i 6. tjednu ispitivanja. U istim intervalima, kod 15 ispitanica je provedeno fotografiranje. Rezultati studije pokazali su da hijaluronski serum ima izvrsnu podnošljivost i da je povećao hidrataciju kože (mjereno korneometrijom) odmah nakon primjene za 134 % ( $p < 0,001$ ), uz trajno povećanje hidratacije od 55 % ( $p < 0,001$ ). U 6. tjednu, također je došlo do poboljšanja ( $p \leq 0,001$ ) u svim procijenjenim parametrima: glatkoća (64 %), hidratacija (63 %), fine bore (31 %), grube bore (14 %). Utvrđeno je da lokalna primjena HA u formulaciji seruma pruža izvrsnu hidrataciju kože, što je dokazano kliničkim, fotografskim, kemijskim i instrumentalnim procjenama (46).

Različiti sastojci kozmetičkih formulacija mogu pridonijeti učinku kozmetičkog proizvoda. Tako osim HA i glicerol može poboljšati hidrataciju kože. Pokazano je da ekstrakt *Centella asiatica* može djelovati smirujuće, protuupalno, te da ima i reepitelizacijski učinak. Nadalje, *Centella asiatica* bi mogla inhibirati aktivnost enzima hijaluronidaze, čime bi se produžio učinak hijalurona. U studiji iz 2017. Milani i Sparavigna koristili su kombinaciju koja sadrži 1 % hijalurona, 5 % glicerol i matične stanice *Centella asiatica*. Cilj studije je bio procijeniti i usporediti 24-satne učinke kombinacije na hidrataciju kože te transepidermalni gubitak vode u zdravih ispitanika u usporedbi s kontrolnom skupinom. U studiji je sudjelovalo 20 zdravih žena prosječne dobi 40 godina. Primarne krajnje točke ispitivanja bile su hidratacija kože i transepidermalni gubitak vlage, a procjena je provedena na volarnoj površini podlaktice u standardiziranim uvjetima (prostorija kontrolirana temperaturom i vlagom: 23 °C i 30 % vlage) korištenjem korneometra i uređaja za mjerenje vlage (vapometar), na početku studije te 1, 8 i 24 sata nakon primjene pripravka. Rezultati studije su pokazali da je hidratacija kože nakon 24 sata bila značajno veća ( $p = 0,001$ ; Mann – Whitney U test) u području tretiranom pripremljenom otopinom u usporedbi s kontrolnim mjestom. Povećanje hidratacije kože je iznosilo: + 59 % (nakon 1 sata), + 48 % (nakon 8 sati) i + 29 % (nakon 24 sata) u usporedbi s netretiranim kontrolnim mjestom. Transepidermalni gubitak vlage nakon 24 sata bio je značajno niži u području tretiranom otopinom u usporedbi s kontrolnim mjestom. Utvrđeno je da se svega jednom primjenom otopine s 1 % hijalurona, 5 % glicerola i matičnih stanica *Centella asiatica*, značajno poboljšava hidrataciju kože (do 24 sata nakon primjene) s istodobnim poboljšanjem funkcije kožne barijere (47).

Proces starenja kože kombinacija je unutarnjih i vanjskih čimbenika. Tijekom starenja, *epidermis* gubi hijaluron što dovodi do osnovnih promjena kod ostarjele kože, kao što su smanjenje turgora, slabija prokrvljenost, pojava bora, gubitak elastičnosti i volumena, osobito jagodica i usnica. Ovaj proces događa se paralelno s progresivnim umrežavanjem i gubitkom kolagena. Svi prethodno navedeni fenomeni doprinose vidljivoj dehidraciji, atrofiji i gubitku elastičnosti koja karakterizira ostarjelu kožu (37). Iako je najznačajnija histokemijska promjena uočena u ostarjeloj koži izraziti nestanak epidermalnog hijalurona, hijaluron je još uvijek prisutan u *dermisu*. Razlozi za ovu promjenu homeostaze hijalurona još nisu poznati. Na sintezu epidermalnog hijalurona utječe *dermis*, a sinteza epidermalnog hijalurona proces je odvojen od sinteze dermalnog hijalurona. Kod stare kože zabilježeno je i progresivno smanjenje veličine hijaluronskog polimera u koži kao rezultat procesa starenja kože (48). Primjenom fotoeksponiranih i fotozaštićenih uzoraka ljudske kože dobivenih od istih pacijenta, prikazan je značajan porast ekspresije hijalurona niže molekularne mase u fotoeksponiranom dijelu kože, u usporedbi s foto zaštićenom kožom što sugerira da je hijaluronska homeostaza izrazita posljedica intrinzičnog starenja kože (49).

Učinkovitost mikroniziranog hijalurona kao sredstva protiv starenja kože, procijenjena je u otvorenoj kliničkoj studiji koja je obuhvatila 36 zdravih odraslih žena. Hidratacija kože (mjerena korneometrom) te čvrstoća i elastičnost kože (mjerene kutometrom) procijenjene su nakon 4 i 12 tjedana od početka primjene kreme s mikroniziranim hijaluronom. Također, procijenjene su fotografske slike tankih bora, a rezultati su mjereni i subjektivno putem upitnika za pacijente. Klinička primjena kreme s 0,15% mikroniziranog hijalurona za lice pokazala je i objektivna i subjektivna poboljšanja u kvaliteti kože lica zdravih odraslih ispitanica. *In vitro* ispitivanja iz ove studije, dokazala su da mikronizirana HA ima veću antiradikalnu aktivnost od izvorne HA, što sugerira bolje upravljanje oksidativnim oštećenjima kože. Rezultati kliničkih ispitivanja su pokazali statistički značajno poboljšanje hidratacije kože od početnog do četvrtog (24 %) i dvanaestog (38,9 %) tjedna tretmana (43).

Hidratacija, čvrstoća i elastičnost kože pokazale su značajno poboljšanje ( $p \leq 0,005$ ) u odnosu na početnu vrijednost kod 67,5 % sudionika. Također, zabilježeno je statistički značajno poboljšanje izgleda tankih linija i bora u području oko očiju nakon samo četiri tjedna primjene kreme. Rezultati ove studije sugeriraju da nova tehnologija koja se koristi za mikronizaciju hijalurona, dovodi do boljeg prodiranja hijalurona u kožu. I drugi istraživači koji su istraživali topikalnu primjenu formulacija s HA došli su do sličnih rezultata (50) u vezi s poboljšanjem stanja kože poput hidratacije i elastičnosti, međutim, učinkovitost je bila manja (43).

Cilj istraživanja kojeg su proveli Jegasothy i sur. (2014) bio je procijeniti učinkovitost topikalnog pripravka koji je sadržavao niskomolekularnu nano-HA za liječenje bora, povećanje hidratacije i elastičnosti kože. U ovom istraživanju trideseti tri žene prosječne starosti 45,2 godine praćene su tijekom osam tjedana kako bi se izmjerila učinkovitost nove nano-HA. Mjerenja su provedena u periorbitalnim regijama, istraživanjem trodimenzionalne strukture kože, vezano za bore, hidrataciju, elastičnost i eritem kože. Na kraju studije, šest odabranih i educiranih ocjenjivača, procijenilo je standardizirane slike, u cilju smanjenja procjene vidljivih bora, kao i ujednačenosti boje kože i pigmentacije. Rezultati studije pokazali su statistički značajan hidratantni učinak asortimana hijaluronskih proizvoda (losion, serum i krema) nakon 2, 4 i 8 tjedana tretmana. Mjerenje hrapavosti kože pokazalo je znatno finiju strukturu kože nakon dva tjedna tretmana, a elastičnost kože pokazala je značajno poboljšanje nakon 2 i 8 tjedana tretiranja s hijaluronskim proizvodima. Nova nano-HA očito je pokazala značajnu korist u smanjenju dubine bora (do 40 %), hidrataciji kože (do 96 %), čvrstoći te elastičnost kože (do 55 %) na kraju osmog tjedna. HA ima značajnu ulogu u sintezi molekula izvanstraničnog matriksa i interakciji epidermalnih stanica s čimbenicima iz okoliša. Rezultati ove studije potvrdili su rezultate prethodnih studija koje su uključivale topikalnu primjenu HA i koje su dokazale, da hijaluron manje molekulske mase lakše prodire u kožu te ima veći utjecaj na njezinu hidrataciju od hijalurona veće molekulske mase (51).



Nobilo i sur. (2014) istraživali su kozmetičku učinkovitost hijaluronskog gela na smanjenje znakova starenja kože te nedostataka volumena kože lica. Bila je riječ o placebo kontroliranom, dvostruko-slijepom, randomiziranom kliničkom ispitivanju koje je provedeno na 40 zdravih ženskih ispitanika, kod kojih su zabilježeni blagi do umjereni klinički znakovi starenja kože. Učinak gela na površinu kože i na volumene lica procijenjen je i kratkoročno (3 sata nakon primjene jednog proizvoda) te dugoročno (7, 14, i 30 dana nakon kontinuirane dnevne uporabe). Rezultati ove studije pokazali su da se tri sata nakon jedne primjene, te 7, 14 i 30 dana nakon primjene hijaluronskog gela, volumen usana povećan za 8,5 %, 11,3 %, 12,8 % te 14,2 %. Nakon 7, 14 i 30 dana opuštenost kože lica smanjena je za  $-0,443 \pm 0,286$ ,  $-1,124 \pm 0,511$ , odnosno  $-1,326 \pm 0,649$  mm. Nadalje, opuštenost kontura jagodica smanjena je za  $-0,989 \pm 0,585$ ,  $-2,500 \pm 0,929$ , odnosno  $-2,517 \pm 0,927$  mm, dok je volumen jagodica povećan je za  $0,875 \pm 0,519$ ,  $2,186 \pm 0,781$ , odnosno  $2,275 \pm 0,725$  mm. Proizvod je pokazao dobar učinak i na bore. Volumen bora smanjen je za  $-11,3$  %,  $-18,4$  %, odnosno  $-26,3$  %, a njihova dubina smanjena je za  $-8,4$  %,  $-14,5$  %, odnosno  $-21,8$  % (52).

Studija koja je procjenjivala učinak topikalnog pripravka koji sadrži humani faktor rasta i serum HA na bore u periorbitalnoj regiji obuhvatila je ukupno 23 ispitanice u dobi od 39-59 godina, koje nisu bile istovremeno podvrgnute niti jednoj drugoj terapiji. Sve pacijentice su završile 8-tjedno ispitivanje u smislu dva puta dnevno primjene humanog faktora rasta i seruma HA na cijelo lice. Učinkovitost se temeljila na procjeni fotooštećenja svaka 4 tjedna. Izračunati su i statistički analizirani standardni parametri bora i hrapavost koji se koristila za procjenu kvalitete kože. Rezultati ove studije pokazali su da su se periorbitalne bore značajno smanjile nakon tretmana, a poboljšanja su primijećena i liječničkom procjenom (44).

Ispitana je učinkovitost lokalne primjene 0,1 % hijaluronske formulacije s HA različitih molekulskih masa (50, 130, 300, 800 i 2000 kDa) na bore u periokularnom području.

U tu svrhu sedamdeset i šest ispitanica u dobi između 30 i 60 godina s kliničkim znakovima periokularnih bora primjenjivalo je jednu od formulacija dva puta dnevno na periokularno područje na randomiziran način tijekom 60 dana. Na područje oko drugog oka nanosena je kontrolna krema. Mjerene su hidratacija i elastičnost kože prije početka studije, 30 i 60 dana nakon primjene krema. Rezultati ove studije ukazuju da su sve kreme na bazi hijalurona koje su korištene u ovoj studiji, dovele do značajnog poboljšanja hidratacije i ukupne elastičnosti kože u usporedbi s placebo. Dubina bora i hrapavost kože, značajno se poboljšala u skupini koja je primjenjivala hijaluronsku formulaciju sa sadržajem hijalurona molekulske mase od 130 i 50 kDa nakon 60 dana liječenja u usporedbi s područjem tretiranim placebo, što je vjerojatno posljedica boljih penetracijskih sposobnosti HA takve molekulske mase. *In vivo* učinak različitih hijaluronskih molekula male molekularne težine (50 kDa, 130 kDa i 300 kDa) uspoređivan je u osmotjednom placebo kontroliranom ispitivanju s kremom (U/V) koja je sadržavala 0,1 % Na-soli hijaluronskog derivata. Dvanaest volonterki, u dobi od 30 do 60 godina, dva puta na dan su nanosile kremu u razdoblju od 60 dana. Rezultat ovog istraživanja jasno je pokazao da hijaluron pokazuje blagotvorno djelovanje na kožu te da se njegovi učinci mogu kontrolirati mijenjanjem molekularne veličine hijalurona. Utvrđeno je da niskomolekularni hijaluron ima bolje sposobnosti prodiranja od hijalurona veće molekularne veličine, i u skladu s tim utječe na ekspresiju gena koji pridonose diferencijaciji keratinocita i stvaranju međustaničnog čvrstog spoja za koje se zna da se smanjuju u ostarjeloj i fotootštećenju koži. To se može objasniti boljim prodiranjem manjih molekula hijalurona u kožu te ukazuje na to da se smanjenjem molekularne veličine hijalurona u lokalnoj primjeni osiguravaju značajniji *antiage* učinci (53).

Kako je posljednjih nekoliko godina potražnja za estetskim postupcima sve veća, u cilju prevencije starenja kože provedena je studija procjene učinkovitosti i podnošljivosti primjene proizvoda koji sadrže HA, *N*-acetil glukozamin i gama-amino maslačnu kiselinu. Rezultati su praćeni uz pomoć instrumentalnih tehnika te kliničke i subjektivne procjene.

Dvadeset žena nanosilo je dnevnu i noćnu kremu nakon nanošenja seruma te jednom tjedno masku tijekom 2 mjeseca. Klinički se procjenjivala glatkoća kože, izraženost dubokih te finih bora i to kroz 0, 15, 30 i 60 dana u ispitivanom razdoblju. Primjenom proizvoda sa sadržajem HA hidratacija je prosječno poboljšana za 24,28 %; vlažnost za 33,60 %, elastičnost za 11,98 %, dok je ten kože posvijetlio za 5,26 %. Sve promjene bile su statistički značajne ( $p < 0,05$ ) (54).

Cilj prospektivnog, randomiziranog, dvostruko slijepog, placebo kontroliranog kliničkog ispitivanja kojeg su proveli Boen i sur. (2020) bio je procijeniti učinkovitost i sigurnost novog seruma koji sadrži frakcioniranu HA, peptide i antioksidanse kod foto oštećene kože vrata. U studiji je sudjelovala 31 zdrava ispitanica s umjerenim do ozbiljnim borama na vratu. Dvadeset ispitanica primalo je aktivni sustav kreme i seruma, dok je 11 primalo samo placebo u obliku seruma i kreme tijekom dva mjeseca. Rezultati ove studije pokazali su da i aktivna i placebo krema i serum smanjuju bore, opuštenost, hiperpigmentaciju, eritem, suhoću i teksturu kože te su ujedno dobili visoke ocjene zadovoljstva pacijenta. Histološka analiza kože nakon primjene jednog od aktivnih uzoraka seruma i kreme, otkrila je poboljšanje kvalitete papilarnog sloja kože, povećanja broja kolagenih i elastičnih vlakana u gornjem sloju *dermisa* nakon tretmana (55).

#### 4.3. ZACJELJIVANJE RANA

HA ubrzava zacjeljivanje rana zahvaljujući brojnim učincima poput stimulacije migracije prijanjanja fibroblasta na mjesto rane, kao i stimulacijom proizvodnje kolagena (31). HA je prisutna u svim fazama zacjeljivanja rana te nije samo produkt, nego i promotor upale te promotor cjelokupnog postupka saniranja rane. Hijaluron pokreće upalni i reparativni proces zacjeljivanja rane kod oštećenih tkiva, a u tom području oslobađa se iz trombocita, kao i iz oštećenih endotelnih stanica (31).

Trenutno se liječenje kroničnih rana temelji na primjeni obloga za rane sa derivatima HA (56-60). U sporo zacjeljujućim ranama, tj. onima s malo granulacijskog tkiva s dubokim nekrotičnim tkivom i eksudacijom, kompliciranim upalom, dolazi do depolimerizacije i razgradnje lokalnih mukopolisaharida, posebno HA. Lokalni deficit HA dovodi do nedovoljne regeneracije vezivnog tkiva, slabe angiogeneze i nedostatne diferencijacije populacije histiocita i fibroblasta. Smatra se da egzogena HA, ukoliko se nanese na ranu, istu održava vlažnom, HA stabilizira fibrinske naslage matrice ugruška, privlači upalne, mezenhimske i epitelne stanice u područje rane i pojačava angiogenezu tkiva. Također, egzogena HA vrši antioksidativno, vazoprotektivno i fibrogeno djelovanje u upalno promijenjenom tkivu sporo zarastajućih rana (61).

Studije na *in vitro* modelima pokazale su da se područje lezije gotovo u potpunosti oporavlja kada je endotelni sloj stanica izložen oligosaharidima hijalurona 40 sati nakon ozljede, dok se područje rane djelomično oporavlja, ako je rana prethodno liječena s prirodnim nerazgrađenim hijaluronom, velike molekularne mase, u kontroliranom mediju. Zanimljivo je da samo specifične veličine HA polimera imaju učinak na proces zarastanja rana (62). Tako je studija koju su proveli Tolg i sur. (2014) utvrdila da sposobnost 6mer HA i 40 kDa HA pospješuje zarastanje rane i rješava upalu bez povećanja diferencijacije miofibroblasta, što ukazuje da bi ovaj HA oligosaharid mogao biti koristan za odgođeno cijeljenje rane te u procesu cijeljenja rane gdje je korisna minimalna fibroza (63).

Proizvedena je i kombinacija HA s vitaminom E, ekstraktom maline te zelenim čajem za potencijalnu topikalnu primjenu sa svrhom zacjeljivanja rana. Izvršena je reološka analiza zajedno s antioksidativnim i biološkim studijama. Reološka karakterizacija pokazala je da formulacija na bazi hijaluronana pokazuje bolja mehanička svojstva od kontrolne formulacije. Da bi se procijenio potencijal u procesu zacjeljivanja rana, proveden je *in vitro* test uz pomoću ljudskih fibroblasta. Formulacija s HA pokazala je bolju sposobnost zacjeljivanja rana od kontrolne formulacije (64).

U studiji koju su proveli Rüther i sur. (2017) na 3D modelu ljudske kože pune debljine ispitivano je kako HA djeluje na fazu epitelizacije rana. Kako bi se utvrdila kinetika reepitelizacije neliječenih rana, modeli su tretirani su s 0,5 % natrijevim hijaluronatom. Protokol ispitivanja sastojao se od lokalnog nanošenja 10  $\mu$ l 0,5 % natrijevim hijaluronatom dva puta dnevno. Procjena kinetike reepitelizacije izvršena je od 2. do 6. dana. Određivanje utjecaja na imunološki odgovor, provedeno je na temelju kvantifikacije IL-1 $\alpha$  i IL-10. Primjena 0,5 % natrijevog hijaluronata dva puta dnevno, povećala je brzinu reepitelizacije u svim vremenskim točkama. Navedeno je bilo popraćeno smanjenom ekspresijom IL-10 i povišenom ekspresijom IL-1 $\alpha$  u razdoblju od drugog do četvrtog dana. Tretiranje ljudskih modela kože natrijevim hijaluronatom, rezultiralo je značajnim povećanjem brzine reepitelizacije oštećenog tkiva i posljedično tome bržem zarastanju rana u usporedbi s neliječenom kontrolnom skupinom. Može se pretpostaviti, da je regulacija IL-10 uzrokovala pojačani imunološki odgovor posredovan IL-1 $\alpha$ , što u konačnici dovodi do ubrzanog zacjeljivanja rana (65).

I studije na životinjama pokazale su da HA može ubrzati zacjeljivanje rana. Damodarasamy i sur. (2014) testirali su učinak egzogenog hijalurona veličine 2, 250, i 1.000 kDa na ekscizijske rane pune debljine u starijih miševa. Samo rane liječene s 250 kDa hijaluronom (HA250) su se značajno poboljšale u odnosu na kontrolnu skupinu. Daljnja analiza pokazala je značajno povećanje količine kolagena III u ranama liječenim s hijaluronom od 250 kDa u odnosu na rane kontrolne skupine. Istraživanje je pokazalo da je hijaluron od 250 kDa korisniji, u odnosu na hijaluron od 2 kDa i hijaluron od 1000 kDa, u promicanju zarastanja rana u ostarjelom *dermisu*. Pokazano je da periodična primjena hijalurona tijekom liječenja, djeluje protivno razgradnji hijalurona s hijaluronidazom. Damodarasamy i sur. zaključili su da hijaluron od 250 kDa poboljšava zarastanje rana i povećava sintezu kolagena III u dermalnoj rani starije kože. Hijaluron od 250 kDa je također povećao ekspresiju fibrogen-transformirajućeg faktora rasta  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) (66).

Oligosaharidi hijaluronana mogu promicati angiogenezu i zacjeljivanje rana, međutim, mali broj studija govori o tome ima li oligosaharid hijaluronana ulogu i u zacjeljivanju rana kod dijabetesa. Da bi se procijenio njegov utjecaj, pripremljena je mast koja je sadržavala mješavinu fragmenata hijaluronana od 2 do 10 disaharidnih jedinica te se istraživao njezin učinak na zacjeljivanje rana kod dijabetičkih štakora. Utvrđeno je da oligosaharidni hijaluronan značajno povećava proliferaciju, migraciju i stvaranje endotelnih stanica pod visokim vrijednostima glukoze u krvi, a lokalna primjena ove masti pospješila je zacjeljivanje rana povećavajući angiogenezu u ranjenom području kože (67).

Kliničke studije ukazuju da HA pozitivno utječe na zacjeljivanje rana. Otvorena studija Voincheta i sur. (2006) istraživala je primjenu HA za poboljšanje procesa zacjeljivanja akutnih rana. U istraživanje su bila uključena četrdeset i tri pacijenta s akutnim ranama, uključujući traumatske rane, kirurške šavove, opekline i dermoabrazije. HA je primijenjena je ili u obliku kreme ili u obliku obloge, a napredovanje i kvaliteta zacjeljivanja procjenjivala se pri svakoj od devet primjena. Prosječna površina rane smanjila se sa 556 mm<sup>2</sup>, točnije za 70 %. Potpuno zacjeljivanje ostvareno je u 56 % slučajeva nakon šeste primjene. U 91 % slučajeva primijećeno je malo ili nimalo fibrina, dok je 84 % rana pokazalo malo ili nimalo eksudata. Obje formulacije HA dobro su se podnosile. Medicinske sestre i pacijenti su potvrdili jednostavnost njihove upotrebe i zadovoljstvo liječenjem. Interpretacija rezultata ove otvorene studije ograničena je nedostatkom standardnog zavoja za ranu kao usporedbe i različitim vrstama rana koje su odabrane za praćenje. Međutim, rezultati istraživanja neosporno pokazuju da HA omogućuje dobro zacjeljivanje akutnih rana i da je dobro prihvaćena od strane pacijenata (68).

HA pozitivno utječe na zacjeljivanje kroničnih rana kod pacijenata oboljelih od dijabetesa. Kako bi se ispitala učinkovitost hijalurona u liječenju dijabetičkog ulkusa, provedena je prospektivna, randomizirana, placebo kontrolirana, jednostruka studija, korištenjem obloga s HA.

Tako su 34 pacijenta koji su zadovoljili kriterije za uključivanje u randomiziranu studiju, podijeljeni u dvije skupine (ispitivana skupina je koristila obloge s hijaluronom, a kontrolna skupina koristila je uobičajeni zavojni materijal). Tijekom razdoblja ispitivanja koje je trajalo 12 tjedana, procjenjivala se stopa primarnog zacjeljivanja te brzina zacjeljivanja dijabetičkog ulkusa. Podaci su se uspoređivali između dviju skupine. Na kraju studije, ispitivana skupina pokazala je značajno veću stopu potpunog izlječenja u usporedbi s kontrolnom skupinom (84,6 % (11/13), odnosno 41,6 % (5/12),  $p = 0,041$ ). Uz to, u ispitivanoj je skupini uočeno brže zacjeljivanje čira i kraće vrijeme potrebno da se veličina čira smanji za 50% ( $p = 0,022$ , odnosno 0,004). Nije bilo neželjenih nuspojava povezanih s primjenom zavojnog materijala u istraživanju. Ovo istraživanje podupire sigurnost i učinkovitost obloga s hijaluronom u liječenju dijabetičkog ulkusa (69).

Esterificirana HA koristi se kao jedinstvena obloga za liječenje teških, neprogresivnih rana, uključujući venske te dijabetičke ulceracije na stopalima. Studija Schneidera i sur. (2019) pratila je mali retrospektivni uzorak s oblogama od esterificirane HA. Obloge su se primjenjivane kod 6 pacijenata s dijabetičkim ulkusom i 3 pacijenta s venskim ulkusom. Pacijenti su procjenjivani u redovitim intervalima, a praćen je promjer i veličina rane, kao i postotak nekrotičnog i granulacijskog tkiva. Vrijeme procjene bilo je 55,25 dana. Tijekom tog razdoblja, prosječna veličina rane se smanjila za 6,43 cm<sup>2</sup>, sa 7,93 cm<sup>2</sup> na 1,50 cm<sup>2</sup>. Za 74,38 % porasla je pokrivenost rana s granulacijskim tkivom, točnije, zabilježen je porast granulacijskog tkiva za 50 % tijekom 55 dana procjene. Navedeno podupire tvrdnju da je HA kritična komponenta u složenoj kaskadi zacjeljivanja rana i da je najvjerojatnije odgovorna za kliničko poboljšanje rane u prikazanim serijama slučajeva (70).

Osim studije s esterificiranom HA i brojne druge studije ukazuju na to da HA pozitivno utječe na zacjeljivanje venskih ulkusa. Dvostruko slijepo, randomizirano, kontrolirano 60-dnevno ispitivanje osmišljeno je kako bi se ispitala učinkovitost i sigurnost podloge koja sadrži hijaluron za lokalno liječenje venskih ulkusa na nogama, u usporedbi s neutralnom podlogom.

Primarni cilj bio je procijeniti postotak smanjenja veličine rane nakon 45 dana primjene pripravka. U studiju je bilo uključeno ukupno 89 pacijenata. Nakon 45 dana, postotak smanjenja površine ulkusa bio je značajno veći u skupini koja je primjenjivala hijaluronske obloge ( $73 \pm 4,6 \%$ ) u odnosu na skupinu koja je upotrebljavala neutralnu podlogu ( $46 \pm 9,6 \%$ ). Broj izliječenih ulkusa bio je značajno veći u skupini koja je primjenjivala hijaluronske obloge 45. dana ( $31,1 \%$  naspram  $9,3 \%$ ) i 60. dana ( $37,8\%$  prema  $16,3 \%$ ). Tridesetog dana intenzitet boli procijenjen je na temelju vizualne analogne ljestvice, bio je značajno niži u skupini koja je primjenjivala hijaluronske obloge ( $12,4 \text{ mm} \pm 2,6$  prema  $22,8 \text{ mm} \pm 3,8$ ;  $p = 0,026$ ). Obloge od hijalurona u lokalnom liječenju venskih ulkusa na nogama, bile su značajno učinkovitije od obloga s neutralnom podlogom za smanjenje veličine rana kod venskih ulceracija, ali i u procesu smanjenja bolova s dobrim sigurnosnim profilom (71).

Studija koju su proveli Dereure i sur. (2012) bavila se s procjenom učinkovitosti i sigurnosti HA u lokalnom liječenju ulkusa na nogama venske ili mješovite etiologije, u usporedbi s neutralnom podlogom. U toj dvostruko-slijepoj, randomiziranoj, multicentričnoj, kontroliranoj studiji koja je trajala 60 dana primarni cilj bio je odraditi postotak smanjenja veličine rane nakon 45 dana liječenja. Sekundarni cilj uključivao je intenzitet boli, brzinu potpunog zacjeljivanja ulkusa te regresiju ostalih karakteristika rana, kao što su postotak nekrotičnog, fibrinoznog ili granulacijskog tkiva te sanaciju kože oko ulkusa. U studiji je sudjelovao 101 ispitanik, od čega je 50 ispitanika koristilo kremu s hijaluronskom kiselinom, a 51 ispitanik je bio u kontrolnoj skupini. Na završetku studije rezultati su procijenjeni kod 75 ispitanika. Nakon 45 dana, postotak smanjenja površine ulkusa bio je značajno veći u skupini koja se liječila kremom koja je u svom sastavu imala HA ( $39 \pm 6 \%$ ) u usporedbi s kontrolnom skupinom ( $5 \pm 9 \%$ ). Sličan rezultat postignut je 15., 30. i 60. dana. Do 45. dana, intenzitet boli smanjio se za  $9,8 \pm 3,5 \text{ mm}$  u skupini koja je primjenjivala kremu s hijaluronskom kiselinom, ali je blago porastao za  $0,8 \pm 3,2 \text{ mm}$  u kontrolnoj skupini.



Osjet boli bio je značajno niži u skupini s hijaluronskom kiselinom ( $121,9 \pm 20,7 \text{ mm}^2$ ) nego u kontrolnoj skupini ( $207,4 \pm 32,9 \text{ mm}^2$ ;  $p = 0,028$ ). Ostali parametri, poput brzine potpunog zacjeljivanja, karakteristike rane i okolne kože, nisu se značajno razlikovale među ispitivanim skupinama. Obje kreme su se dobro podnosile. Istraživanjem se utvrdilo da je krema sa sadržajem HA značajno učinkovitija od kreme s neutralnom podlogom za lokalno liječenje ulkusa na nogama venske ili mješovite etiologije, u smislu smanjenja veličine rane i boli, uz dobar sigurnosni profil (72).

Hidrogel na bazi hijalurona prikladna je polučvrsta podloga koja sama za sebe ima povoljan terapijski učinak jer je uključena u prirodne procese zacjeljivanja, uključujući upale, granulaciju i reepitelizaciju. Međutim, takav hidrogel može biti i podloga za uklapanje djelatnih tvari i nanosila lijekova. Tako su Shi i sur. (2018). proučavajući djelovanje hijalurona došli do proizvodnje hijaluronskih obloga za zacjeljivanje rana u kombinaciji s ionima srebra. U takvim oblogama dinamičke koordinacijske veze metal-ligand koriste se za ukalupljivanje hijalurona. Da bi se postiglo reverzibilno umrežavanje HA lanaca, biopolimer semodificira s bisfosfonatnim ligandima. Hidrogel nastaje odmah nakon jednostavnog dodavanja iona srebra ( $\text{Ag}^+$ ) u otopinu HA koja sadrži biofosfatnu skupinu. Ovakav hidrogel pokazao se prikladnim za kliničku uporabu jer može ispuniti ranu nepravilnog oblika, ali dodatno pokazuje i antimikrobna svojstva prema gram-pozitivnim i prema gram-negativnim sojevima bakterija, čime prevenira infekciju rane (59).

Kako bi se procijenila djelotvornost spreja koja sadrži koloidno srebro i HA, provedeno je ispitivanje na 54 bolesnika koji su podijeljeni u dvije odvojene skupine: 30 bolesnika imalo je kronične rane, a 24 bolesnika površinske traumatske rane. Sprej sa sadržajem koloidnog srebra i HA upotrebljavao se tijekom 3-7 dana, ovisno o karakteristikama lezija. Pratila se veličina lezije i brzina ponovne epitelizacije, uzimajući u obzir vremenski raspon i praćenje pacijenata zbog kliničkih znakova infekcije rane. Zadovoljstvo pacijenata ocjenjivalo se upitnikom usmjerenim na procjenu boli i jednostavnost upotrebe spreja.

Kronične lezije izliječene su u 12. tjednu, a visoka stopa zarastanja rana primijećena je u 6. tjednu (70 %). Nadalje, traumatične rane zacijelile su u šest tjedana, uz značajan postotak zatvaranja (80 %) nakon tri tjedna. Dobra kontrola mikrobiološke kontaminacije očitovala se na svim tretiranim ranama, te nisu korišteni antibiotici. Pacijenti su izrazili svoje pozitivno mišljenje s obzirom na formulaciju spreja i jednostavnost upotrebe. Ovakav klinički pristup dobar je izbor za promicanje ponovne epitelizacije površinskih kožnih ulkusa različitog podrijetla, kao i kontrolu bakterijskih infekcija (73).

#### 4.4. OPEKLINE

Hijaluron je pokazao svoju djelotvornost i u liječenju rana od opekline. Campanati i sur. (2013) uspoređivali su djelotvornost HA u odnosu na ozonirano ulje, za koje se ranije dokazalo da je djelotvorno u liječenju rana od opekline. U studiju je tijekom 12 tjedana bilo uključeno ukupno 30 pacijenata s opeklinama drugog stupnja u fazi reepitelizacije. Svaka opekline podijeljena je u dva simetrična dijela. Jednom dnevno tijekom 12 tjedana jedan dio tretiran je okluzivnom primjenom ozoniranog ulja, a kontralateralni dio lezije je tretiran lokalnom primjenom gela s HA. Klinička procjena obavljena je na svakom pacijentu na početku te 6 i 12 tjedana nakon započete terapije. Rezultati su pokazali da su se sve liječene lezije poboljšale, bez obzira na korišteni tretman. Ozonirano ulje bilo je jednako učinkovito kao i HA u smanjenju eritema, napetosti, svrbeža i osjećaja peckanja, koje su prijavili pacijenti, međutim, ozonirano ulje je učinkovitije u prevenciji post-lezijske hiperpigmentacije (74). HA pokazala se iznimno uspješna u procesu liječenja opekline u kombinaciji s 1 % srebro-sulfatiazinom. Multicentrično, multinacionalno, randomizirano, dvostruko slijepo, kontrolirano te paralelno ispitivanje osmišljeno je za procjenu učinkovitosti i sigurnosti fiksne kombinacije lokalnog lijeka, kreme, koja je sadržavala 0,2 % HA i 1 % srebrnog sulfatiazina, u odnosu na kremu sa sadržajem 1 % srebrnog sulfatiazina u liječenju opekline drugog stupnja.

U ovoj studiji sudjelovalo je 111 odraslih pacijenata u dobi od 18 do 75 godina, oba spola s opeklinama IIa (površinske) i IIb (duboke dermalne) stupnja koji su randomizirano primjenjivali kremu s hijaluronom i 1 % srebrnim sulfatiazinom ili kremu s 1 % srebrnim sulfatiazinom. Količina od približno 5 g/100 cm<sup>2</sup> primjenjivala se jednom dnevno dok rane nisu zacijelile, ali ne dulje od 4 tjedna. Starost tretiranih opeklin, nije smjela biti veća od 48 h te su one morale biti izazvane toplinskom ozljedom i ograničene na trup i/ili gornje i donje ekstremitete. Rezultati ove studije pokazali su da su i jedan i drugi pripravak učinkoviti u topikalnoj primjeni, kao i da se dobro podnose u procesu liječenja opeklin drugog stupnja. Sve su opeklinae izliječene, osim kod jednog bolesnika. Također, primijećeno je da je fiksna kombinacija uzrokovala znatno bržu ponovnu epitelizaciju opeklin, tj. kraće vrijeme do zacjeljivanja, od pripravka koji je sadržavao 1 % srebro sulfatiazina. Zabilježena je razlika od 4,5 dana u procesu brzine zacjeljivanja rana u korist primjene kombinacije HA s 1 % srebro sulfatiazinom (75). Slični rezultati dobiveni su u još dva randomizirana kontrolirana ispitivanja koja su pratila 143 bolesnika s opeklinama koji su primjenjivali 0,2 % HA sa 1 % srebro sulfadiazinom (5g/cm<sup>2</sup>) u odnosu na primjenu samo 1 % srebro sulfadiazina (5g/cm<sup>2</sup>) do potpunog zacjeljivanja (76).

#### 4.5. AKUTNE KOŽNE REAKCIJE NA RADIOTERAPIJU

Česta posljedica radioterapije su i promjene na koži. Koža u zračenom području postaje crvena, nadražena i suha. Kasnije, osobito u naborima, može se javiti eritem, vlažna deskvamacija te ponekad ulceracija.

Cilj randomizirane, dvostruko slijepe, placebom kontrolirane studije koju su proveli Liguori i sur. (1997) bio je procijeniti učinak kreme s HA na akutne kožne reakcije nakon radioterapije. Od 152 pacijenta s karcinomima glave i vrata, dojke ili zdjelice koji su sudjelovali u studiji, 134 je završilo studiju.

Sto tridest i četiri pacijenta koji su završili studiju, bili su podijeljeni u dvije skupine: 70 pacijenata u skupini koja je tretirala kožu s hijaluronskom kremom i 64 pacijenata u skupini koja je primjenjivala placebo. U vrijeme randomizacije, ove dvije skupine bile su uravnotežene po spolu, dobi, težini i visini. Prosječna ukupna doza zračenja davana tijekom studije bila je  $60,6 \pm 10,9$  Gy u skupini koja je tretirana s kremom s hijaluronom i  $64,3 \pm 10,8$  Gy, a u skupini koja je primala placebo. Klinička slika akutne reakcije kože na radioterapiju bila je značajno veća u skupini s placebom, nego u skupini koja je tretirala kožu s hijaluronskom kremom, počevši od kontrole u 3. tjednu i tijekom 6 tjedana liječenja. Isto tako, globalna procjena učinkovitosti koju su na kraju liječenja iskazali i liječnici i pacijenti, pokazala je značajnu razliku u korist kreme s hijaluronom. Nije bilo značajne razlike u toleranciji između liječenja hijaluronskom kremom ili placebom. Istraživanje je pokazalo da preventivna upotreba kreme s hijaluronskom kiselinom smanjuje učestalost akutnih kožnih reakcija na radioterapiju te ujedno poboljšava kvalitetu života kod pacijenata koji su podvrgnuti zračenju (77).

Za procjenu učinkovitosti HA u usporedbi s placebom, Korova i sur. (2011) proveli su studiju koja je uključila pacijente s rakom dojke te radio-induciranim dermatitisom 1-2 stupnja tijekom postoperativne radioterapije. Randomizirani su da primjenjuju HA ili kremu s 2 % ureom i 9,5% emolijens. Primarna krajnja točka bila je klinička procjena eritema. Sekundarna krajnja točka bila je procjena promjene boje kože, boli i kvalitete života. U studiju je bilo uključeno 200 pacijenata pri čemu je 99 pacijenata primjenjivalo hijaluron, a 101 pacijentje primjenjivao samo emolijens. Indeks tjelesne mase i veličina kožne reakcije na radioterapiju, bili su neovisno povezani s neuspjehom lokalnog liječenja. Relativno smanjenje promjene boje kože iznosio je 20 % u skupini s hijaluronskom kiselinom i 13 % u skupini s kremom (emolijans). Što se tiče procjene kvalitete života, zabilježen je trend prema nižoj razini boli u bolesnika koji su primjenjivali HA topikalno. Ovo istraživanje nije pokazalo značajnu razliku između HA i jednostavnog emolijanta u liječenju akutnog radio-induciranog dermatitisa. Međutim, zabilježen je trend smanjenja boli te smanjenje tendencije promjene boje kože (78).

#### 4.6. SEBOROIČNI DERMATITIS

Seboroični dermatitis na licu, karakteriziran je eritemom ili ljuškanjem kože u područjima s velikim brojem sebacealnih žlijezdi. Seboroični dermatitis, pojavljuje u vlasištu, na licu i trupu. Etiopatogeneza bolesti nije u potpunosti poznata, ali je povezana s kolonizacijom kvasnicama koja rezultira kožnim promjenama poput ljuškavanja, pruritusa, masne, crvene i upaljene kože. Prva linija liječenja su keratolitici, lokalni steroidi, topikalni antimikotici, te imunosupresivni lijekovi kao što su pimekrolimus i takrolimus (79).

Kako bi se ispitala učinkovitost HA u terapiji seboroičnog dermatitisa provedena je prospektivna promatračka studija u ambulantnim uvjetima. Cilj studije bio procijeniti učinkovitost, sigurnost i podnošljivost topikalne primjene gela natrijeve soli HA niske molekularne mase 0,2 %, kao protuupalnog sredstva u liječenju seboroičnog dermatitisa. Sudionici ove studije bile su osobe od 18 do 75 godina s seboroičnim dermatitisom lica. Praćeni su eritem i pruritus. Ispitanici su procjenjivani u početnoj fazi, 2., 4. i 8. tjedan. U istraživanju je sudjelovalo 15 ispitanika. Gel natrijeve soli HA 0,2 % doveo je do poboljšanja za 47,62 % od početne primjene do 4. tjedna. Smanjenje simptoma kao što su eritem i pruritus iznosilo je 60 % u 4. tjednu. U 8. tjednu došlo je do poboljšanja u odnosu na početno stanje kod 100 % ispitanika. Istraživanjem je utvrđeno da topikalna primjena HA niske molekularne mase, rezultira poboljšanjem simptoma seboroičnog dermatitisa uz dobru podnošljivost pripravka. Autori smatraju da niskomolekularni hijaluron djeluje blagotvorno i nakon prestanka primjene zbog ciljanog učinka na urođeni imunitet kože. Iako je u ovoj kratkoj studiji sudjelovao mali broj sudionika, autori smatraju da topikalna primjena HA niske molekularne mase ima povoljan učinak za liječenje seboroičnog dermatitisa lica u odrasle populacije (79).

Studija koju su proveli Puviani i sur. (2019) bavila se procjenom utjecaja HA na seboroični dermatitis. U ovoj studiji koristila se krema koja je sadržavala 5 % HA pripravljene u smjesi glikoproteina i peptidnog glikanskog kompleksa izvedenog iz bakterijske stijenke.

Istraživanje je bilo prospektivno i trajalo je 6 tjedana, a procjenjivao se učinak kreme sa sadržajem 5 % HA na seboroični dermatitis lica te učinci na mikrobiotu kože. U ovoj studiji sudjelovalo je sedamdeset i pet ispitanika (prosječne dobi 46; 60 muškaraca i 15 žena) s umjereno teškim seboroičnim dermatitisom lica. Krema se nanosila dva puta dnevno. Primarno se ocjenjivao eritem, ljuskanje kože, stupanj seboreje i svrbež. Površinski bakterijski mikrobion na koži, početno stanje i stanje nakon liječenja procijenjeno je korištenjem metodologije 16S rRNA gena, u zahvaćenom i nezahvaćenom području lica. Rezultati ove studije pokazali su da se ljuskanje kože, stupanj seboreje i svrbež smanjio za 70 % u 3. tjednu i za 88 % u 6. tjednu primjene. Povećala se i prisutnost *Cutibacterium acnes*, bakterija povezanih sa značajnim padom rodova *Staphylococcus*, prisutnog u zahvaćenom području. Omjer relativne brojnosti rodova *Cutibacterium/Staphylococcus*, značajno je povećan nakon tretmana u zahvaćenom području. Proizvod je bio dobro podnošljiv. Autori su zaključili da liječenje seboroičnog dermatitisa primjenom pripravka s 5 % HA u smjesi glikoproteina dva puta dnevno tijekom 6 uzastopnih tjedana, smanjuje simptome seboroičnog dermatitisa, ali djeluje i na mikrobiotu kože lica (80).

*In vitro* i *in vivo* studije su pokazale da egzogeni unos glutation-GSH-C4 i tokoferola inhibira peroksidaciju lipida te je učinkovito sredstvo u borbi za smanjenje oksidativnog stresa u upalnim poremećajima. Provedena je studija kojom je obuhvaćeno 20 pacijenata sa seboroičnim dermatitisom, kako bi se procijenila učinkovitost i podnošljivost kreme koja je sadržavala 0,4 % butiroil glutation i 0,25 % HA. Pacijenti koji su koristili kremu, pokazali su dobar klinički odgovor, što se pokazalo postupnim smanjenjem upalnih lezija na koži. Rezultati ove pilot studije potvrdili su učinkovitost i podnošljivost ispitane topikalne formulacije, ali se rezultati trebaju potvrditi na većem broju pacijenata (81).

#### 4.7. ROZACEA, STRIJE I OŽILJCI

Rozacea je kronična upalna bolest kože karakterizirana crvenilom, eritemom, telangiektazijama, edemom, papulama i pustulama. Uzrok bolesti nije poznat, ali se smatra da je njezina etiopatogeneza višestruka. Kao mogući uzroci navode se hiperaktivni neurovaskularni sustav, grinje (*Demodex folliculorum*) te poremećaj prirodnog i stečenog imuniteta. Liječenje rozacee je složeno te obuhvaća promjenu životnog stila, izbjegavanje kemijskih ili fizičkih poticaja ali i upotrebu topikalnih ili oralnih antibiotika (82).

Učinkovitost kreme s 0,2 % natrijeve soli hijaluronske kiseline niske molekularne mase, za koju je dokazano da je učinkovita u normalizaciji kožnog upalnog odgovora, istraživana je i za liječenje rozacee. U studiji je sudjelovalo 15 ispitanika u dobi od 18 do 75 godina s blagom do umjerenom rozaceom lica. Praćene su kliničke manifestacije bolesti papule, pustule, eritemi, edemi, telangiektazije, peckanje i suhoća kože. Ispitanici su procjenjivali učinak kreme na početku te 2., 4. i 8. tjedna. Vizualnim ocjenjivanjem fotografija prije i poslije terapije, zaključeno je da krema s 0,2 % natrijeve soli HA poboljšava stanje kože od 47,5 % od početne vrijednosti do 4. tjedna. Smanjenje papula, eritema, peckanja i suhoće iznosilo je 47, 52, 65 i 78 % u 4. tjednu primjene dok je podnošljivost bila izvrsna. U 8. tjednu primjene poboljšanje je zabilježeno kod 78,5 % ispitanika. Stoga su autori zaključili da je topikalna primjena niskomolekularne HA jedna od opcija koja se može uzeti u obzir za liječenje rozacee u odrasle populacije (82).

Strije predstavljaju oštećenje vezivnog tkiva, nastalo uslijed prebrzog rastezanja kože. Točnije, strije su neka vrstu ožiljka vezivnog tkiva. Pri naglom rastezanju kože, vezivno tkivo se ne može tako brzo prilagoditi te dolazi do oštećenja u *dermisu* s upalnim edemom i puknućem vlakana kolagena, elastina i fibronektina. Strije u početku imaju crvenu boju i vodoravna su oblika, a kasnije poprimaju bijelu boju (83).

Draelos i sur. (2010) istražili su učinak kreme s lukom, gotu kolom i HA na poboljšanje izgleda crvenih strija. Sudionice ove randomizirane studije u dobi od 18 do 45 godina, nisu primjenjivale nikakve proizvode na područje ispitivane kože, 2 tjedna prije početka studije. Nakon početka studije kroz 12 tjedana na kožu lateralne strane bedara, primijenjivana je dva puta dnevno krema sa lukom, gotu kolom i HA. Parametri koji su se procjenjivali u 2., 4., 8., i 12 tjednu, uključivali su boju, teksturu i cjelokupni izgled crvenih strija od strane i sudionika i istražitelja. Tretirano bedro pokazalo je statistički značajnu razliku u promjeni svih prethodno navedenih parametara (83).

Ožiljak može nastati kao posljedica ozljede, opekline ili poslije operativnog zahvata. Do sada je dokazano da pojedinačna primjena i HA i vitamina C smanjuju nastanak ožiljaka pomoću različitih mehanizama. Tako su Amirlak i sur. (2016) procjenjivali učinkovitost i sigurnost sustava hijaluronske podloge koja sadrži aktivni derivat vitamina C, kako bi utvrdili potiče li uporaba ovog proizvoda zacjeljivanje i smanjuje li upalu i ožiljke nakon operacije. U ovoj dvostruko slijepoj, randomiziranoj, prospektivnoj studiji sudjelovale su osobe koje su imale jednostrane ili obostrane kirurške ožiljke, starije od 1 mjeseca, ali mlađe od 18 mjeseci. Kirurški ožiljci nasumično su odabrani za primjenu placeba ili hijaluronske podloge s vitaminom C. Tri neovisna ocjenjivača pregledala su fotografije ožiljaka i ocjenjivali su iste uz pomoć vizualne analogne skale. Također, provedeno je istraživanje zadovoljstva pacijenta. Sudionici, 23 pacijenta, praćeni su nakon 4 tjedna, 12 tjedana i 1 godine. Šest pacijenata odustalo je od studije, a ukupno 17 pacijenata uključeno je u konačnu analizu. Srednjavrijednost vizualne analogne ljestvice za ispitanike s ožiljcima koji su primjenjivali hijaluronsku podlogu s vitaminom C, bila je nešto niža od onih koji su primjenjivali placebo, ali razlika nije bila statistički značajna (t test;  $p = 0,9$ ). Utvrđeno je da hijaluronska podloga s vitaminom C ima značajne pozitivne rezultate u istraživanju zadovoljstva pacijenta te je sigurnaza upotrebu i tretiranje svih ožiljaka starijih od 4 tjedna (84).



## 5. RASPRAVA

HA je mukopolisaharid koji se prirodno nalazi u ljudskom organizmu. Može biti sastavljena do nekoliko tisuća povezanih šećera (ugljikohidrata). Kada nije povezana s drugim molekulama, veže se s vodom dajući viskoznu tvar strukture gela. Primarno se nalazi u izvanstaničnom i pericelularnom matriksu (usko područje matriksa koje je u uskom dodiru sa staničnom membranom), ali se može naći i u unutarstaničnom matriksu (85). Koža, najveći organ ljudskog tijela, sadrži najviše HA, a ujedno je i organ u kojem su promjene povezane sa starenjem najvidljivije (86).

Kronološko starenje kože karakterizirano je atrofijom kože s gubitkom elastičnosti i usporenom metaboličkom aktivnosti. Prirodnim starenjem koža postaje tanka, opuštena, suha, gubi svoju elastičnost, te izgleda izborano, dok izloženost ultraljubičastom zračenju uzrokuje hipertrofni odgovor sa zadebljanim *epidermisom* i povećanom melanogenezom. Mnoge neželjene promjene mogu se poboljšati topikalnom (lokalnom) terapijom s odgovarajućom zaštitom od vanjskih čimbenika koja će značajno odgoditi prve znakove starenja (87). Brojne studije ukazuju na pozitivan učinak topikalno primijenjene HA u održavanju izgleda i zdravlja kože. Pokazalo se tako da veličina molekula hijalurona utječe na dubinu njegove penetracije u kožu, kao i *antiaging* svojstva hijaluronskih krema za njegu kože (30, 43, 44). Nekoliko studija pokazalo je da HA značajno povećava hidrataciju kože neovisno o formulaciji proizvoda. Izvrsni rezultati zabilježeni su kod primjene HA u obliku gela (45) ili seruma (46). Osim hidratacije, HA je pozitivno utjecala na elastičnost kože (30, 51), smanjenje bora (51, 52, 53) te opuštenost kože na području lica, uključujući konture jagodica i usana (52).

Osim molekulske mase HA (53) i tehnološki postupci kojima se utječe na veličinu čestica hijalurona, poput mikronizacije (30) te uklapanje u liposome (45) ili nanočestice (51), također mogu utjecati na učinak HA.

Izvrstan učinak na izgled kože pokazale su i kombinacije drugih tvari s HA, poput kombinacije s glicerolom i ekstraktom vrste *Centella asiatica* (47), *N*-acetil glukozaminom i gama-amino maslačnom kiselinom (54) te humanim faktorom rasta (44).

Mnogi biološki procesi posredovani hijaluronskom kiselinom zauzimaju središnje mjesto u procesu zacjeljivanja rana. U tom kontekstu primjena HA se ističe kao novi pristup za liječenje dermalnih i epidermalnih ozljeda, a koristi se u obliku kreme, gela ili impregniranih gaza za poticanje zacjeljivanja rana (76). Nakon ozljede slijedi niz događaja zacjeljivanja rane: upala, tvorba granulacijskog tkiva, reepitelizacija i remodeliranje (85). Uspješno liječenje i zacjeljivanje rana dovodi do oporavka fiziološke funkcije kože, ublažavanja ili uklanjanja simptoma, kao što su bol ili svrbež te estetski i funkcionalni popravci ozljeda bez pojave hipertrofičnih ožiljaka i keloida (76). Tkivo rane u ranoj fazi upale bogato je hijaluronskom kiselinom zbog povećane sinteze. Ona ima višestruku ulogu kod upale; može djelovati kao promotor upale što je važno u procesu zacjeljivanja i povećava staničnu infiltraciju, a u pomalo kontradiktornoj ulozi može ublažiti upalu, što može dovesti do stabilizacije granulacijskog tkiva (88). Brojne studije ukazale su na pozitivan učinak topikalno primijenjene HA na zacjeljivanje rana, no intenzitet učinka uvelike ovisi o veličini molekule (62, 66). Preliminarna istraživanja provedena u *in vitro* studijama ukazala su da bi učinak HA mogao biti povezan sa smanjenom ekspresijom IL-10 i povišenom ekspresijom IL-1 $\alpha$  (65) te TGF- $\beta$ 1 (66). U kliničkim studijama HA je pozitivno utjecala na zacjeljivanje akutnih rana (68) te kroničnih rana poput dijabetičkog (69, 70) ili venskog ulkusa (71, 72, 64). Dobar učinak HA na zacjeljivanje rana uočen je i u studijama s kombinacijama HA s ionima srebra (59, 73).

Opekline su traumatska ozljeda koja je posljedica izravnog ili neizravnog djelovanja toplinske energije na ljudsko tijelo, koje dovodi do uništenja tkiva. Potiču ih razni agensi kao što su toplina, zračenje, struja, trenje ili izloženost kemikalijama (76). Karakterizirane su gubitkom *dermisa*, stoga je vraćanje pune debljine *dermisa* od primarne važnosti za početak ozdravljenja. Jednom kada je dermalni sloj dobro razvijen, zatvaranje rane je olakšano (89).

Što je zahvaćena površina veća, to su značajniji razorni učinci temperature, gubitaka tekućine i topline. Gubitak vanjske barijere i traume tkiva rezultira upalom i bolovima. Rana zaštita i pokrivenost čistih otvorenih rana pomažu u moduliranju tih učinaka smanjujući bol i upalu, štiteći kritične temeljne strukture, smanjujući pritom gubitke tekućine i topline (89). U studijama koje su ispitivale učinak na zacjeljivanje opekline, HA se pokazala jednako učinkovitom kao ozonirano ulje, iako je bila nešto manje učinkovita u prevenciji rezidualne hiperpigmentacije (74). Značajan učinak HA je pokazala i u kombinaciji s 1 % srebro sulfatazinom (76). Primjena proizvoda s HA smanjuje učestalost intenzitet upala kože kod pacijenata podvrgnutih radioterapiji (77, 78).

Seboroični dermatitis je upalna bolest kože koja se pojavljuje se na područjima kože vlasišta, lica i trupa bogatih sebumom. Nekoliko studija je potvrdilo da topikalna primjena HA niske molekularne težine, rezultira poboljšanjem simptoma seboroičnog dermatitisa i ukoliko se koristi samostalno (80, 90) ili u kombinaciji s butiroil glutationom (81). Primjena HA pokazala je potencijal i u liječenju i korekciji drugih problema u izgledu i zdravlju kože poput rozacee (90), strija (83) i dok je značajniji učinak na ožiljke nakon operativnog zahvata izostao (84).

## 6. ZAKLJUČAK

Brojne klinične studije potvrđuju učinkovitost HA u kozmetičkoj i dermatološkoj primjeni. Topikalna primjena HA dovodi do povećane hidratacije kože, a povezana je i s cijelim nizom drugih učinaka koji dovode do poboljšanja izgleda kože poput povećanja elastičnosti i čvrstoće smanjenja brojnosti i dubine bora. Nadalje, ubrzava proces zarastanja akutnih i kroničnih rana poput dijabetičkog i venskog ulkusa, pospješuje liječenje opekline te ima pozitivno djelovanje na strije, seboroični dermatitisa i rozaceu. Stoga nema sumnje da će se u budućnosti koristiti njena multifunkcionalnost te da će se pojaviti novi proizvodi i metode liječenja s hijaluronskom kiselinom kao djelatnom tvari.

## 7. LITERATURA

1. Fakhari A, Berklund C. Applications and Emerging Trends of Hyaluronic Acid in Tissue Engineering, as a Dermal Filler, and in Osteoarthritis Treatment *Acta Biomaterialia* 2013;9(7):7081-7092.
2. Dicker KT, Gurski LA, Pradhan-Bhatt S, Witt RL, Farach-Carson MC, Jia X. Hyaluronan: a simple polysaccharide with diverse biological functions. *Acta Biomater* 2014;10(4):1558-1570.
3. Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni Medicina* 2008;397-411.
4. Chen LH, Xue JF, Zheng ZY, Shuhaidi M, Thu HE, Hussain Z. Hyaluronic acid, an efficient biomacromolecule for treatment of inflammatory skin and joint diseases: A review of recent developments and critical appraisal of preclinical and clinical investigations. *Int J Biol Macromol* 2018;116:572-584.
5. Hascall VC, Laurent TC. Hyaluronan: Structure and Physical Properties. *GlycoForum—Hyaluronan Today Website*. 1997.
6. Knopf-Marques H, Pravda M, Wolfova L. i sur. Hyaluronic Acid and Its Derivatives in Coating and Delivery Systems: Applications in Tissue Engineering, Regenerative Medicine and Immunomodulation. *Adv Healthc Mater* 2016;5:2841–2855.
7. Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB. Hyaluronan: Its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med* 1997;242:27–33.
8. Girish KS, Kemparaju K. The magic glue hyaluronan and its eraser hyaluronidase: A biological overview. *Life Sci* 2007;80:1921–1943.
9. Lapcík L Jr, Lapcík L, De Smedt S, Demeester J, Chabreck P. Hyaluronan: Preparation, Structure, Properties, and Applications. *Hyaluronan: Preparation, Structure, Properties, and Applications. Chem Rev* 1998;98(8):2663-2684.

10. Pisárčik M, Bakoš D, Čeppan M. Non-Newtonian properties of hyaluronic acid aqueous solution. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp* 1995;97:197–202.
11. Rwei SP, Chen SW, Mao CF, Fang HW. Viscoelasticity and wearability of hyaluronate solutions. *Biochem Eng. J* 2008;40:211–217.
12. Chernos M, Grecov D, Kwok E, Bebe S, Babsola O, Anastassiades T. Rheological study of hyaluronic acid derivatives. *Biomed Eng Lett* 2017;7(1):17-24.
13. Rebenda D, Vrbka M, Čípek P. i sur. On the Dependence of Rheology of Hyaluronic Acid Solutions and Frictional Behavior of Articular Cartilage. *Materials (Basel)*. 2020 Jun 11;13(11):2659.
14. Marinho A, Nunes C, Reis S. Hyaluronic Acid: A Key Ingredient in the Therapy of Inflammation. *Biomolecules* 2021;11(10):1518.
15. Weigel PH, Hascall VC, Tammi M. Hyaluronan synthases. *J. Biol. Chem* 1997;272:13997–14000.
16. Itano N, Kimata K. Mammalian hyaluronan synthases. *IUBMB Life*. 2002;54:195–199.
17. Siiskonen H, Oikari S, Pasonen-Seppänen S, Rilla K. Hyaluronan synthase 1: a mysterious enzyme with unexpected functions. *Front Immunol* 2015;6:43.
18. Supp DM, Hahn JM, McFarland KL, Glaser K. Inhibition of hyaluronan synthase 2 reduces the abnormal migration rate of keloid keratinocytes. *J. Burn Care Res* 2014;35:84–92.
19. Volpi N, Schiller J, Stern R, Soltés L. Role, metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan. *Curr Med Chem* 2009;16:1718–1745.
20. Zhang Z, Tao D, Zhang P. i sur. Hyaluronan synthase 2 expressed by cancer-associated fibroblasts promotes oral cancer invasion. *J. Exp Clin Cancer Res* 2016;35:181.
21. Li Y, Liang J, Yang T. i sur. Hyaluronan synthase 2 regulates fibroblast senescence in pulmonary fibrosis. *Matrix Biol* 2016;55:35–48.

22. Zhang H, Tsang JY, Ni YB. i sur. Hyaluronan synthase 2 is an adverse prognostic marker in androgen receptor-negative breast cancer. *J Clin Pathol* 2016;69:1055–1062.
23. Adamia S, Pilarski PM, Belch AR, Pilarski LM. Aberrant splicing, hyaluronan synthases, and intracellular hyaluronan as drivers of oncogenesis and potential drug targets. *Curr Cancer Drug Targets* 2013;13:347–361.
24. Adamia S, Maxwell CA, Pilarski LM. Hyaluronan and hyaluronan synthases: Potential therapeutic targets in cancer. *Curr. Drug Targets Cardiovasc. Haematol Disord* 2005;5:3–14.
25. Heldin P, Lin CY, Kolliopoulos K, Chen YH, Skandalis SS. Regulation of hyaluronan biosynthesis and clinical impact of excessive hyaluronan production. *Matrix Biol* 2018.
26. Toole BP. Hyaluronan: From extracellular glue to pericellular cue. *Nat Rev Cancer* 2004;4:528–539.
27. Fallacara A, Baldini E, Manfredini S, Vertuani S. Hyaluronic Acid in the Third Millennium. *Polymers (Basel)*. 2018;10(7):701.
28. Stern R, Jedrzejewski MJ. Hyaluronidases: Their genomics, structures, and mechanisms of action. *Chem Rev* 2006;106:818–839.
29. Robert L, Robert AM, Renard G. Biological effects of hyaluronan in connective tissues, eye, skin, venous wall. Role in aging *Pathol Biol* 2010;58:187–198.
30. Desai P, Patlolla RR, Singh M. Interaction of nanoparticles and cell-penetrating peptides with skin for transdermal drug delivery. *Mol Membr Biol* 2010;27(7):247-59.
31. Aya KL, Stern R. Hyaluronan in wound healing: rediscovering a major player. *Wound Repair Regen* 2014;22(5):579-93.
32. Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol* 2012;4(3):253-258.
33. Cyphert JM, Trempus CS, Garantziotis S. Size matters: Molecular weight specificity of hyaluronan effects in cell biology. *Int J Cell Biol* 2015; 2015:563818.

34. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev* 2011;91:221–264.
35. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007;23:435–461.
36. Tamer TM. Hyaluronan and synovial joint: Function, distribution, and healing. *Interdiscip. Toxicol* 2013;6:111–125.
37. Marunaka K, Shu S, Kobayashi M. i sur. Elevation of Hyaluronan Synthase by Magnesium Supplementation Mediated through the Activation of GSK3 and CREB in Human Keratinocyte-Derived HaCaT Cells. *Int J Mol Sci* 2021 Dec 22;23(1):71.
38. Nakatani S, Mori K, Shoji T, Emoto M. Association of Zinc Deficiency with Development of CVD Events in Patients with CKD. *Nutrients* 2021;13(5):1680.
39. Research GV. Hyaluronic Acid Market Size Worth USD 15.4 Billion by 2025|CAGR: 8.8% market
40. De Oliveira JD, Carvalho LS, Gomes AM, Queiroz LR, Magalhães BS, Parachin NS. Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms. *Microb Cell Fact* 2016;15:119.
41. Shiedlin A, Bigelow R, Christopher W. i sur. Evaluation of hyaluronan from different sources: *Streptococcus zooepidemicus*, rooster comb, bovine vitreous, and human umbilical cord. *Biomacromolecules* 2004;5:2122–2127.
42. Boeriu CG, Springer J, Kooy FK, van den Broek LAM, Eggink G. Production methods for hyaluronan. *Int J Carbohydr Chem* 2013;2013:14.



43. Lubart R, Yariv I, Fixler D, Lipovsky A. Topical Hyaluronic Acid Facial Cream with New Micronized Molecule Technology Effectively Penetrates and Improves Facial Skin Quality: Results from In-vitro, Ex-vivo, and In-vivo (Open-label) Studies. *J Clin Aesthet Dermatol* 2019;12(10):39-44.
44. Lee DH, Oh IY, Koo KT. i sur. Improvement in skin wrinkles using a preparation containing human growth factors and hyaluronic acid serum. *J Cosmet Laser Ther* 2015;17(1):20-3.
45. Haeusler H. Efficacy of a hyaluronic acid gel to improve the skin properties. *SOFW Journal* 2015;141:16–18.
46. Draelos ZD, Diaz I, Namkoong J, Wu J, Boyd T. Efficacy Evaluation of a Topical Hyaluronic Acid Serum in Facial Photoaging. *Dermatol Ther (Heidelb)* 2021;11(4):1385-1394.
47. Milani M, Sparavigna A. The 24-hour skin hydration and barrier function effects of a hyaluronic 1%, glycerin 5%, and Centella asiatica stem cells extract moisturizing fluid: an intra-subject, randomized, assessor-blinded study. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2017;10:311-315.
48. Meyer LJ, Stern R. Age-dependent changes of hyaluronan in human skin. *J Invest Dermatol* 1994;102:385–9.
49. Bernstein EF, Underhill CB, Hahn PJ, Brown DB, Uitto J. Chronic sun exposure alters both the content and distribution of dermal glycosaminoglycans. *Br J Dermatol* 1996;135(2):255-62.
50. Pavicic T, Gauglitz GG, Lersch P. i sur. Efficacy of cream-based novel formulations of hyaluronic acid of different molecular weights in anti-wrinkle treatment. *Drugs Dermatol* 2011;10(9):990-1000.

51. Jegasothy SM, Zabolotniaia V, Bielfeldt S. Efficacy of a New Topical Nano-hyaluronic Acid in Humans. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2014;7(3):27-9.
52. Nobile V, Buonocore D, Michelotti A, Marzatico F. Anti-aging and filling efficacy of six types hyaluronic acid-based dermo-cosmetic treatment: double blind, randomized clinical trial of efficacy and safety. *J Cosmet Dermatol* 2014;13(4):277-87.
53. Farwick M, Lersch, P, Strutz G. Low molecular weight hyaluronic acid: Its effects on epidermal gene expression & skin ageing. *SÖFW J* 2008;11:134-137.
54. Ferrillo M, Vastarella M, Cantelli M, Mazzella C, Fabbrocini G. Instrumental, clinical and subjective evaluation of the efficacy of a cosmetic treatment for home use. *J Cosmet Laser Ther* 2019;21(4):190-195.
55. Boen M, Alhaddad M, Wu DC, Goldman MP. A Prospective Double-blind, Placebo-controlled Clinical Trial Evaluating the Efficacy of a Novel Combination of Hyaluronic Acid Serum and Antioxidant Cream for Rejuvenation of the Aging Neck. *J Clin Aesthet Dermatol* 2020;13(11):13-18.
56. Trookman NS, Rizer RL, Ford R, Ho E, Gotz V. Immediate and Long-term Clinical Benefits of a Topical Treatment for Facial Lines and Wrinkles. *J Clin Aesthet Dermatol* 2009;2(3):38-43.
57. Kirk JF, Ritter G, Finger I. i sur. Mechanical and biocompatible characterization of a cross-linked collagen-hyaluronic acid wound dressing. *Biomatter* 2013;3(4):e25633.
58. Sharma M, Sahu K, Singh SP, Jain B. Wound healing activity of curcumin conjugated to hyaluronic acid: in vitro and in vivo evaluation. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2018;46(5):1009-1017.
59. Shi L, Zhao Y, Xie Q. i sur. Moldable Hyaluronan Hydrogel Enabled by Dynamic Metal-Bisphosphonate Coordination Chemistry for Wound Healing. *Adv Healthc Mater* 2018;7(5):1700973.

60. Li H, Xue Y, Jia B. *in situ*. The preparation of hyaluronic acid grafted pullulan polymers and their use in the formation of novel biocompatible wound healing film. *Carbohydr Polym* 2018;15(188):92-100.
61. Ortonne JP. A controlled study of the activity of hyaluronic acid in the treatment of venous leg ulcers, *Journal of Dermatological Treatment* 1996;7(2):75-81.
62. Gao F, Yang CX, Mo W, Liu YW, He YQ. Hyaluronan oligosaccharides are potential stimulators to angiogenesis via RHAMM mediated signal pathway in wound healing. *Clin Invest Med* 2008;31(3):E106-16.
63. Tolg C, Telmer P, Turley E. Specific sizes of hyaluronan oligosaccharides stimulate fibroblast migration and excisional wound repair. *PLoS One* 2014;9(2):e88479.
64. Makvandi P, Caccavale C, Della Sala F, Zeppetelli S, Veneziano R, Borzacchiello A. Natural Formulations Provide Antioxidant Complement to Hyaluronic Acid-Based Topical Applications Used in Wound Healing. *Polymers (Basel)* 2020;12(8):1847.
65. Rütther L, Bolke L, Schlippe GR, Voss WA. Hyaluronan als Schlüssel zur schnelleren Wundheilung in humanen 3-D-Vollhautmodellen [Hyaluronan as a key for accelerated wound healing in human 3D full thickness skin models]. *Hautarzt* 2017;68(12):987-993.
66. Damodarasamy M, Johnson RS, Bentov I, MacCoss MJ, Vernon RB, Reed MJ. Hyaluronan enhances wound repair and increases collagen III in aged dermal wounds. *Wound Repair Regen* 2014;22(4):521-6.
67. Wang Y, Han G, Guo B, Huang J. Hyaluronan oligosaccharides promote diabetic wound healing by increasing angiogenesis. *Pharmacol Rep* 2016;68(6):1126-1132.
68. Voinchet V, Vasseur P, Kern J. Efficacy and safety of hyaluronic acid in the management of acute wounds. *Am J Clin Dermatol* 2006;7(6):353-7.

69. Lee M, Han SH, Choi WJ, Chung KH, Lee JW. Hyaluronic acid dressing (Healoderm) in the treatment of diabetic foot ulcer: A prospective, randomized, placebo-controlled, single-center study. *Wound Repair Regen* 2016;24(3):581-8.
70. Schneider HP, Landsman A. Preclinical and Clinical Studies of Hyaluronic Acid in Wound Care: A Case Series and Literature Review. *Wounds* 2019;31(2):41-48.
71. Humbert P, Mikosinki J, Benchikhi H, Allaert FA. Efficacy and safety of a gauze pad containing hyaluronic acid in treatment of leg ulcers of venous or mixed origin: a double-blind, randomised, controlled trial. *Int Wound J* 2013;10(2):159-66.
72. Dereure O, Czubek M, Combemale P. Efficacy and safety of hyaluronic acid in treatment of leg ulcers: a double-blind RCT. *J Wound Care* 2012;21(3):131-39.
73. Gazzabin L, Bucalossi M, Mariani F, Serantoni S. Spray formulation of silver and hyaluronic acid in the treatment of superficial cutaneous ulcers of different etiopathogenesis: analysis of fifty-four clinical cases. *Panminerva Med* 2011;53(3):185-91.
74. Campanati A, De Blasio S, Giuliano A. i sur. Topical ozonated oil versus hyaluronic gel for the treatment of partial to full-thickness second-degree burns: A prospective, comparative, single-blind, non-randomised, controlled clinical trial. *Burns* 2013;39(6):1178-83.
75. Costagliola M, Agrosi M. Second-degree burns: a comparative, multicenter, randomized trial of hyaluronic acid plus silver sulfadiazine vs. silver sulfadiazine alone. *Curr Med Res Opin* 2005;21(8):1235-40.
76. Dalmedico MM, Meier MJ, Felix JV, Pott FS, Petz Fde F, Santos MC. Hyaluronic acid covers in burn treatment: a systematic review. *Rev Esc Enferm USP* 2016;50(3):522-8.

77. Liguori V, Guillemin C, Pesce GF, Mirimanoff RO, Bernier J. Double-blind, randomized clinical study comparing hyaluronic acid cream to placebo in patients treated with radiotherapy. *Radiother Oncol* 1997;42(2):155-61.
78. Kirova YM, Fromantin I, De Rycke Y. i sur. Can we decrease the skin reaction in breast cancer patients using hyaluronic acid during radiation therapy? Results of phase III randomised trial. *Radiother Oncol* 2011;100(2):205-9.
79. Schlesinger T, Rowland Powell C. Efficacy and safety of a low molecular weight hyaluronic Acid topical gel in the treatment of facial seborrheic dermatitis final report. *J Clin Aesthet Dermatol* 2014;7(5):15-8.
80. Puviani M, Campione E, Offidani AM. i sur. Effects of a cream containing 5% hyaluronic acid mixed with a bacterial-wall-derived glycoprotein, glycyrrhetic acid, piroctone olamine and climbazole on signs, symptoms and skin bacterial microbiota in subjects with seborrheic dermatitis of the face. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2019;2(12):285-293.
81. Campione E, Mazzilli S, Lanna C. i sur. The Effectiveness of a New Topical Formulation Containing GSH-C4 and Hyaluronic Acid in Seborrheic Dermatitis: Preliminary Results of an Exploratory Pilot Study. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2019;16(12):881-885.
82. Schlesinger TE, Powell CR. Efficacy and tolerability of low molecular weight hyaluronic acid sodium salt 0.2% cream in rosacea. *J Drugs Dermatol* 2013;12(6):664-7.
83. Draelos ZD, Gold MH, Kaur M. i sur. Evaluation of an onion extract, Centella asiatica, and hyaluronic acid cream in the appearance of striae rubra. *Skinmed* 2010;8(2):80-6.

84. Amirlak B, Mahedia M, Shah N. A Clinical Evaluation of Efficacy and Safety of Hyaluronan Sponge with Vitamin C Versus Placebo for Scar Reduction. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 2016;4(7):e792.
85. Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni Medicina* 2008; 397-411.
86. Juhlin L. Hyaluronan in skin (Minisymposium: Hyaluronan). *Journal of Internal Medicine* 1997; 242: 61–6.
87. Delalle-Lozica N. Local therapy as basic anti-aging prevention. *Acta clinica Croatica* 2010;49:529-536.
88. Chen WY, Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound repair and regeneration* 1999;7:79–89.
89. Longinotti C. The use of hyaluronic acid based dressings to treat burns: A review. *Burns & Trauma* 2014;2(4):162–168.
90. Schlesinger T, Rowland Powell C. Efficacy and safety of a low molecular weight hyaluronic Acid topical gel in the treatment of facial seborrheic dermatitis final report. *J Clin Aesthet Dermatol* 2014;7(5):15-8.