



BENEFICIOS Y MECANISMO DE ACCIÓN DEL ÁCIDO HIALURÓNICO SOBRE LA PIEL ENVEJECIDA.

Víctor García¹, Blanca Miller²

1. **Unión Interamericana de Medicina Estética. Sociedad Científica Venezolana de Medicina Estética. Fundación Centro de estudios de Medicina Estética. Caracas, Venezuela**
2. **Sociedad Mexicana Científica de Medicina Estética. Instituto Panamericano de profesionales Científicos. Ciudad de México, México.**

Correspondencia: Urbanización El Marques, Sector Horizonte, Calle Maracay, Quinta Riva., Caracas 1071, Miranda, Venezuela

Email: fuceme@gmail.com

RESUMEN

Los avances en el conocimiento de los mecanismos bioquímicos asociados con el envejecimiento han llevado al desarrollo de diferentes enfoques para reducir y reparar sus efectos, en particular mediante el uso de procedimientos mínimamente invasivos. El uso de materiales con alta biocompatibilidad y biodegradables ha permitido el poder abordar diferentes signos de envejecimiento cutáneo, como surcos, arrugas, atrofia labial y pérdida de la textura superficial de la piel, así como la restauración de la turgencia, elasticidad e hidratación de la piel. Una de tales sustancias está representada por el ácido hialurónico, que desempeña un papel determinante en la hidratación del espacio extracelular debido a su capacidad para atraer a las moléculas de agua, y además, crea las condiciones fisiológicas en la matriz extracelular para la proliferación, la migración y organización de las células dérmicas.



PALABRAS CLAVE

Ácido Hialurónico, envejecimiento facial, hidratación de la piel, matriz extracelular.

BENEFITS AND MECHANISM OF ACTION OF HYALURONIC ACID ON AGED SKIN

ABSTRACT

Advances in the knowledge of the biochemical mechanisms associated with aging have led to the development of different approaches to reduce and repair their effects, in particular through the use of minimally invasive procedures. The use of materials with high biocompatibility and biodegradability has allowed to address different signs of skin aging, such as furrows, wrinkles, labial atrophy and loss of the superficial texture of the skin, as well as the restoration of the turgidity, elasticity and hydration of the skin. One such substance is represented by hyaluronic acid, which plays a determining role in the hydration of the extracellular space due to its ability to attract water molecules, and also creates physiological conditions in the extracellular matrix for proliferation, migration and organization of skin cells.

KEYWORDS

Hyaluronic acid, facial aging, hydration of the skin, extracellular matrix.

INTRODUCCION

Con la edad y la exposición a las radiaciones ultravioletas, la piel sufre cambios morfológicos y mecánicos que se manifiestan como líneas de expresión, arrugas, flacidez, pérdida de elasticidad y la sequedad en la superficie (1). Se

denota de manera particular, la disminución de la síntesis de colágeno y elastina en conjunto con un aumento de su degradación, la reducción de la capacidad proliferativa de los fibroblastos y las perturbaciones en la organización de la red de fibras elásticas,

que conllevan a alteraciones en las propiedades mecánicas de la piel con reducción de la turgencia y elasticidad (2, 3). Por otro lado, el contenido de ácido hialurónico en la piel también demuestra ciertas modificaciones, por ejemplo, los estudios señalan que tanto en el envejecimiento intrínseco como extrínseco disminuye el contenido de ácido hialurónico epidérmico, sin embargo, los datos relacionados con el contenido en la dermis aún no son concluyentes, pero se ha observado una acumulación anormal, una disminución de los niveles de ARNm de HAS y una reducción del tamaño molecular, sobre todo en los casos de fotoenvejecimiento (4). Los avances en el conocimiento de los mecanismos bioquímicos asociados con el envejecimiento han llevado al desarrollo de diferentes enfoques para reducir y reparar sus efectos, en particular mediante el uso de procedimientos mínimamente invasivos. El uso de materiales con alta biocompatibilidad y biodegradables ha permitido el poder abordar diferentes signos de envejecimiento cutáneo, como surcos, arrugas, atrofia labial y pérdida

de la textura superficial de la piel, así como la restauración de la turgencia, elasticidad e hidratación de la piel.

NATURALEZA DEL PRODUCTO

El ácido hialurónico, que desempeña un papel determinante en la hidratación del espacio extracelular debido a su capacidad para atraer a las moléculas de agua, y además, crea las condiciones fisiológicas en la matriz extracelular para la proliferación, la migración y organización de las células dérmicas (5). Productos de ácido hialurónico purificados representan una muy buena opción para la corrección de las características fisiológicas de la piel, mejorando arrugas y cicatrices, y dando un alto índice de satisfacción en los pacientes. Mediante el uso de un método bien tolerado, no quirúrgico, con un bajo índice de reacción inflamatoria local, y que no requiere una prueba de sensibilidad, presenta efectos inmediatos y satisfactorios y tiene una duración conveniente. El ácido hialurónico (AH) fue obtenido por primera vez en 1934, a partir del humor vítreo ocular, y desde entonces ha sido utilizado en su forma

nativa en el campo de la oftalmología y en cirugías ortopédicas como sustituto del líquido sinovial (6, 7), desarrollándose igualmente productos para su utilización en estética y de para la medicina regenerativa con el diseño de andamios para la reconstitución de tejidos (8). Representa un glicosaminoglicano perteneciente al del tejido conectivo de diversos órganos en los humanos, y se encuentra de igual manera presente en todos los seres vivos, teniendo la particularidad de que la composición química es la misma para todos (9). Es un polisacárido constituido por unidades repetidas de disacáridos, ácido D-glucurónico y N-acetil-D-glucosamina, encontrándose en su estado natural con una disposición lineal en el espacio. El ácido hialurónico ha mostrado ser una sustancia biocompatible, con bajo potencial de reacciones alérgicas e inmunogénicas. Se trata de un polímero polianiónico que ha pH fisiológico tienen carga negativa, y presenta una fuerte afinidad por el agua, atrapándola, lo que explica uno de sus efectos terapéuticos como es la reposición de la hidratación, en el caso

particular de la piel. En su estado natural, presente en el tejido conectivo, tiene una vida media de 1-2 días, siendo eliminado fácilmente a través de la degradación enzimática en el hígado convirtiéndolo en dióxido de carbono y agua, donde actúan como cofactores esenciales las especies reactivas de oxígeno (9). En el cuerpo de un individuo adulto encontramos unos 15 gramos de ácido hialurónico aproximadamente, de los cuales más o menos un 50% se encuentra en la piel (10, 11). Posee una excelente propiedad viscoelástica, siendo el principal glicosaminoglicano encontrado en la dermis (9, 12). El AH utilizado en la fabricación de materiales de relleno y materiales de biorevitalización puede ser de origen animal, obtenido de la cresta del gallo, o de origen no animal, el cual se genera por un proceso de bio-fermentación. El proceso más utilizado para este último proceso de obtención utiliza la fermentación de cepas bacterianas de *Streptococcus* que, debido a no tener especificidad antigénica, tienen un bajo potencial de causar reacciones alérgicas o inmunológicas. El glicosaminoglicano

conseguido de esta manera debe someterse a un proceso de purificación, para eliminar la mayor cantidad de proteínas derivadas de bacterias, y así reducir el potencial antigénico y prevenir los posibles efectos adversos (9). Los productos de AH que se presentan en el mercado para su uso en estética pueden estar en forma libre o haber sido sometidos a un proceso de reticulación. La reticulación es un proceso químico mediante el cual se modifica las propiedades físicas y mecánicas del ácido hialurónico con el uso de sustancias especiales, que forma puentes de carbono irreversibles entre las moléculas de ácido hialurónico, provocando un aumento de la duración in vivo del producto (10). La capacidad que tiene el ácido hialurónico presentado en gel para unirse al agua depende de una variedad de características intrínsecas de la sustancia. Cuanto menor reticulación o ninguna reticulación posea el gel, mayor será su capacidad de captación hídrica y viceversa. Debido a sus propiedades higroscópicas, AH puede todavía aumentar su volumen en un 10% -15% después de su aplicación (9). Es

importante reseñar que los productos hechos a partir de ácido hialurónico logran restaurar las funciones biológicas de los tejidos, permitiendo la recuperación de condiciones mecánicas, proporcionando mayor turgencia y elasticidad del tejido conectivo.

DEGRADACION

La degradación de la molécula de AH depende de varios factores, entre ellos la actividad de los radicales libres y la enzima hialuronidasa (10). En un estudio realizado por Greenwald y col (13) se demostraron los mecanismos mediante los cuales ocurre la despolimerización del ácido hialurónico por la actividad del anión superóxido y otros radicales libres. En este trabajo realizado in vitro, se corrobora una disminución de la viscosidad de soluciones de hialuronato, mientras que los perfiles cromatográficos de los glicosaminoglicanos son desplazados para constituir elementos con pesos moleculares más bajos. Otra consecuencia del estrés oxidativo es que promueve los estados inflamatorios que a su vez conducen a la activación de

enzimas como la elastasa, la hialuronidasa y la ciclooxigenasa. Las dos primeras van a hidrolizar los componentes de la matriz extracelular (colágeno, elastina, ácido hialurónico), mientras que la ciclooxigenasa inducirá la producción de los mediadores de la inflamación.

MECANISMO DE ACCIÓN

Un gramo de ácido hialurónico puede unir hasta 6 L de agua, y esta unión se produce a través de la formación de un puente de hidrógeno con el grupo carboxilo de la molécula de ácido hialurónico. A pH fisiológico, la molécula de ácido hialurónico atrae el agua, provocando que esta se hinche. Las moléculas de agua se unen a los grupos N-acetilo y carboxilo; se debe tener en cuenta que las unidades de las moléculas se repiten, cuanto más larga es la molécula, más lugares que tiene para que las moléculas de agua se unan y por lo tanto mayor capacidad de hidratación y turgencia tendrá (14). De igual manera, esta capacidad de modulación de la hidratación que posee este importante glucosaminoglicano favorece el

equilibrio osmótico (15), que es fundamental para la piel, y contribuye a la restauración de las propiedades mecánicas de la dermis y epidermis, entre las cuales encontramos fundamentalmente la elasticidad. También se ha podido demostrar que el ácido hialurónico desempeña varias funciones importantes en la organización de la matriz extracelular. Esta función la logra mediante interacciones específicas y no específicas entre las células y otros componentes. Existen diversas proteínas de unión de ácido hialurónico que forman parte constituyente de la matriz extracelular, estabilizando su integridad, y permitiéndole otorgar actividad mecánica al tejido conectivo (16, 17). Martine Baspeyras y col realizaron un estudio doble ciego, controlado, utilizando ácido hialurónico no reticulado, aplicado bajo técnica intradérmica, donde demostraron una mejoría del comportamiento mecánico de la dermis, así como la obtención de lozanía, suavidad y brillo de la superficie cutánea, resultados que se mantuvieron por un período de 3 meses. Demostraron igualmente que aumenta

significativamente la capacidad de elasticidad y flexibilidad de la piel, lo cual explican por el hecho de que el AH puede participar en un aumento del grosor dérmico y en una mejor organización y actividad de las fibras de elastina y colágeno (18).

Por otro lado, se ha evidenciado un aumento del depósito de colágeno tras la aplicación de AH a nivel intradérmico. Wang y col demostraron que las inyecciones de ácido hialurónico en la piel del antebrazo llevan a un aumento significativo del depósito de colágeno tipo 1 (19). De igual forma, Lacarrubba y col realizaron un estudio con análisis de la piel a través del uso de ultrasónico, donde observaron un aumento de la ecogenicidad de la banda subepidermal, luego de haberse realizado mesoterapia con ácido hialurónico, sugiriendo que estos cambios pueden estar relacionados con una mayor densidad de dérmica favorecida por una mayor presencia de fibras de colágeno (20). Así mismo, otros estudios han demostrado la efectividad del uso de AH en infiltración intradérmica aumentando la elasticidad

cutánea y disminuyendo la rugosidad superficial de la piel (21).

La elasticidad bruta es un parámetro que evalúa globalmente la elasticidad de la piel y, por lo tanto, proporciona una visión particular de los aspectos clínicos y estéticos del tratamiento de rejuvenecimiento. Sin embargo, si se desea evaluar los cambios funcionales relacionados con el tratamiento, tales como los efectos sobre la extensibilidad o relajación inmediata o retardada, la elasticidad bruta no proporciona información suficiente. Por lo tanto, se requiere una gama más amplia de parámetros para proporcionar una comprensión más completa de los efectos ejercidos por AH. Un estudio piloto llevado a cabo por Reuther y col mide una serie de parámetros en la piel una vez que ha sido tratada con AH, observándose que la extensibilidad disminuyó lo que nos indica que la firmeza aumentó. Otros dos parámetros obtenidos en el estudio fueron la relación de extensión retardada a inmediata, pudiéndose evidenciar una inclinación hacia la extensión retardada. En cuanto a la relajación, el aumento en la elasticidad

bruta indica una capacidad de retroceso global creciente. Se concluyó que el tratamiento con ácido hialurónico tiene un impacto en las propiedades viscoelásticas intrínsecas de la piel, lo que resulta muy interesante en los pacientes tratados por envejecimiento cutáneo con moderada laxitud (22). Los efectos benéficos en la piel no han sido demostrados solo en el área facial sino también en otras regiones del cuerpo donde la piel igualmente ha mostrado diferencias importantes tras la aplicación de AH. Stefanie Williams y col demostraron cambios in vivo sobre el tratamiento del dorso de la mano utilizando métodos no invasivos, mediante los cuales pudieron observar un aumento de la hidratación del estrato córneo, con reducción del TEWL y disminución de la rugosidad de la superficie de la piel, así como un aumento de la elasticidad (23). El aumento de la elasticidad según los autores podría estar relacionados por el incremento de la turgencia dérmica y por un aumento inducido por AH en la biosíntesis de novo del colágeno, lo cual ha sido mencionado en otras

investigaciones científicas (19, 24, 25, 26). De igual manera, un ensayo realizado con hialurónico no reticulado aplicado en la dermis profunda en la piel del brazo dio los mismos resultados apoyando los resultados observados a nivel de la superficie cutánea y en las características mecánicas de la piel (27). El ácido hialurónico posee una serie de funciones fisicoquímicas de protección que pueden proporcionar algunos efectos adicionales in vivo. AH exógeno reduce la producción y la actividad de los mediadores proinflamatorios y metaloproteinasas de la matriz, disminuyendo la actividad que estos elementos tienen en el tejido conectivo, y altera el comportamiento de las células inmunes. Estas funciones se manifiestan en la eliminación de radicales libres derivados de oxígeno reactivo, la inhibición de la adherencia de complejos inmunes a células polimorfonucleares, la inhibición de la migración de macrófagos y leucocitos, y la regulación de la proliferación de fibroblastos (28, 29). El hialuronato también es capaz de interactuar con un número de receptores que resulta en la activación de

cascadas de señalización que influyen en la migración celular, la proliferación, y la expresión génica (30). Los receptores de hialuronato incluyen las proteínas de unión de enlace de proteínas versican y neurocan y los receptores CD44, TSG6 y GHAP (17, 29). La interacción de la HA con CD44 induce muchos eventos fisiológicos, tales como la migración celular y la proliferación (31, 32). La capacidad de hialuronano para interactuar con receptores celulares desencadena varias respuestas celulares específicas para los tipos de células que demuestran que este polímero posee una gran capacidad para modular el comportamiento celular participando en diferentes actividades celulares. El aspecto más importante de la señalización de hialuronano es el tamaño. Se ha demostrado que AH con diferentes tamaños puede inducir diferentes vías de señalización, pudiendo interactuar con varios receptores como una molécula grande con varios millones de Dalton (alto peso molecular - HMW) así como de bajo peso molecular (LMW). Los efectos de estos polímeros con diferente peso molecular son

notablemente diferentes desencadenando diferentes vías de señalización (33). Como la degradación del AH depende de la actividad de las enzimas hialuronidasas y los radicales libres, en la actualidad se presentan fórmulas para biorevitalización cutánea que combinan a la molécula elementos que regulan y controlan las reacciones oxidativas y con ello permiten una durabilidad mayor de las moléculas simples en el tejido dérmico. Mendoza y col (34) realizaron un estudio donde se investigó la inhibición de la degradación de ácido hialurónico en presencia de cuatro antioxidantes conocidos. Ellos denotan que la degradación de hialuronato se inhibió de un modo claramente dependiente de la concentración por manitol, tiourea y la vinpocetina. De igual manera, el Propofol también inhibió la despolimerización, aunque su efecto en relación a la concentración no pudo establecerse con claridad. Se obtuvo una disminución del 50% de la degradación de la sustancia con concentraciones de 42 microM de tiourea; 1.35 microM para vinpocetina; y 0,39 microM para

propofol; y 26.51 mM de manitol. Aunque muchos factores están involucrados en una respuesta terapéutica, los resultados obtenidos en este estudio apoyan la idea de que el ácido hialurónico puede ser protegido del ataque de las especies reactivas de oxígeno con el uso concomitante de antioxidantes conocidos, y de esta manera disminuir su rápida degradación. De igual manera la forma de depósito del ácido hialurónico en la dermis dependiendo de la técnica puede también inducir diferencias de efecto. En este sentido Taieb y col (35) realizaron un trabajo en el cual se valoró un tratamiento para la piel envejecida a través de la administración intradérmica de ácido hialurónico no reticulado con manitol utilizando dos técnicas específicas, administración del producto en forma de depósito (micropápula), y en forma de micro punturas seriadas. Observaron una importante diferencia en relación con la técnica y resultados; para el grupo donde se utilizó la técnica en forma de depósito la mejoría en cuanto a hidratación, anisotropía y disminución de la rugosidad de la piel fue mucho más

importante que para aquellas a quienes se le realizaron multipunturas. La administración de micro depósitos en la piel actúa como un reservorio de liberación lenta y sostenida que puede ser responsable de los cambios y diferencias observadas.

EFFECTOS COLATERALES

Todo procedimiento médico se acompaña de una u otra forma de condiciones adversas, lo importante es que estas sean poco comunes, y que no dejen secuelas. La vía parenteral intradérmica por si misma conduce a la acción del uso de agujas sobre la piel, que puede traer consigo la aparición de equimosis, marcas de pinchazos, eritema, edema relativo y el dolor, que en general mejoran en pocas horas a días de manera espontánea. En general, la técnica de inyección suele estar relacionada con la aparición de tales efectos, donde también la velocidad de la inoculación y la manipulación del tejido son factores importantes (36), no siendo imputables al material inoculado. En relación con AH muchos estudios clínicos apoyan su uso como uno de los

componentes más seguros utilizados como producto de relleno dérmico y biorevitalización de la piel. Décadas de experiencia con diferentes preparaciones de hialuronato han demostrado que el uso de los productos disponibles es seguro y no se han encontrado contraindicaciones o interacciones con otros productos médicos. Por su parte, la respuesta al tratamiento de bioestimulación dérmica no ha demostrado presentar efectos indeseables importantes ni alteraciones con secuelas permanentes después de su utilización. Existe en la actualidad una disminución importante de la aparición de reacciones de hipersensibilidad, lo cual se ha atribuido a las mejores condiciones de pureza del ácido hialurónico. Klein y colaboradores, en su estudio, sugieren que la mayoría de las reacciones alérgicas presentadas con la utilización de productos para tratamiento faciales a base de ácido hialurónico son debidas a la presencia de proteínas contaminantes en el proceso de manufactura del dispositivo (37). Los tipos de hipersensibilidad que pueden aparecer en estos casos son variables,

tipo I, III y IV (38). Se han reportado aparición de granulomas en algunos casos de utilización de productos de relleno reticulados, y se le ha asociado a presencia de infección (14, 30, 39, 40), sin embargo, esto no ha sido descrito para los hialurónicos no reticulados utilizados para mejorar las condiciones de hidratación facial.

Se ha reportado de manera excepcional el desarrollo de necrosis en zonas sensibles (glabella, labios) las cuales se han atribuido a un efecto de compresión vascular obstaculizando la adecuada irrigación del sitio o por la utilización de la epinefrina junto con un anestésico que puede producir un espasmo vascular (40). En general, los efectos adversos generales con implantes de ácido hialurónico, teniendo en cuenta toda la literatura, a menudo se resuelven con relativa satisfacción y el tratamiento más ampliamente utilizado para esta condición son los corticosteroides orales, los medicamentos tópicos antiinflamatorios y las inyecciones de hialuronidasa.

CONCLUSION

En el proceso de envejecimiento existe una disminución de la turgencia, elasticidad y flexibilidad de la piel, presumiblemente debido a la alteración de los patrones y niveles de glicosaminoglicanos (GAG), especialmente el ácido hialurónico (HA) y sulfato de dermatán, que son los más comunes. En los seres humanos, el ácido hialurónico es más abundante en la piel, siendo sintetizado principalmente por las células mesenquimales. El uso de péptido HA-unión biotinilado reveló que no sólo las células de origen mesenquimal son capaces de sintetizar HA y permitió la localización histológica de la sustancia en el compartimiento dérmico y epidérmico de la piel. El cambio más dramático histoquímica observado en la piel senil es la notable desaparición de ácido hialurónico en la epidermis y dermis. Con el aumento de envejecimiento, una disminución constante de la molécula se produce, por lo que su reposición viene a normalizar las condiciones mecánicas y fisiológicas de la piel. Procedimientos de relleno de

tejidos blandos con productos inyectables son cada vez más importante para el rejuvenecimiento de la cara. La variedad de rellenos dérmicos disponibles es cada vez mayor, y la comprensión de sus características individuales permite resultados óptimos. Fundamentalmente importante teniendo en cuenta los resultados que se persigan. Actualmente, los rellenos de ácido hialurónico son una intervención establecida para corregir las deficiencias de volumen y la pérdida de hidratación facial. Los resultados de varios estudios confirman que la utilización de ácido hialurónico no reticulado por vía de aplicación intradérmica mejora la hidratación de la piel, su firmeza y propiedades viscoelásticas. En conclusión, se demuestra de manera objetiva la eficacia y la tolerancia de un dispositivo elaborado con ácido hialurónico no reticulado mejora de forma sostenible parámetros elásticos de la piel y la luminosidad del cutis. Así mismo, varios trabajos científicos apoyan el hecho de que la adición de antioxidantes favorece la neutralización de radicales libres, elementos que

aceleran la degradación del hialuronato, permitiendo así una mayor permanencia de la molécula en los tejidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gniadecka M, Nielsen OF, Wessel S, et al. Water and protein structure in photoaged and chronically aged skin. *J Invest Dermatol.* 1998;111:1129–1133.
2. Hwang K-A, Yi B-R, Choi K-C. Molecular mechanisms and in vivo mouse models of skin aging associated with dermal matrix alterations. *Lab Anim Res.* 2011;27:1–8.
3. Uitto J. Connective tissue biochemistry of the aging dermis. Age-related alterations in collagen and elastin. *Dermatol Clin.* 1986;4:433–446.
4. Dong Hun Lee Jang-Hee Oh Jin Ho Chung. Glycosaminoglycan and proteoglycan in skin aging. *Journal of Dermatological Science*, doi.org/10.1016/j.jdermsci.2016.05.016.
5. Dessy LA, Trignano E, Scuderi N. Randomized prospective study on the efficacy of a new revitalizing filler composed of hyaluronic acid (Wipeline®) G
6. Ital Dermatol Venereol. 2008;143:161–165.
7. Alves R, Brandão PM. [Hyaluronic acid] Ácido hialurônico. In: Kede MPV, Sabatovich O, editors. *Dermatologia Estética*. São Paulo: Atheneu, Brazil; 2003. pp. 501–505.
8. Horibe EK, Salles AG. [Hyaluronic acid] Ácido hialurônico. In: Horibe EK, editor. *Estética Clínica e Cirúrgica*. Rio de Janeiro, Brazil: Revinter; 2000. pp. 157–160.
9. Dicker KT, Gurski LA, Pradhan-Bhatt S, Witt RL, Farach-Carson MC, Jia X. Hyaluronan: A simple polysaccharide with diverse biological functions. *Acta Biomaterialia* 10 (2014) 1558–1570.

10. Monheit GD, Coleman KM. Hyaluronic acid fillers. *Dermatol Ther.* 2006;19(3):141–150.
11. Kablik J, Monheit GD, Yu L, Chang G, Gershkovich J. Comparative physical properties of hyaluronic acid dermal fillers. *Dermatol Surg.* 2009;35(Suppl 1):302–312.
12. Edsman K, Nord LI, Ohrlund A, Lärkner H, Kenne AH. Gel properties of hyaluronic acid dermal fillers. *Dermatol Surg.* 2012;38(7 Pt 2):1170–1179.
13. Mercer SE, Kleinerman R, Goldenberg G, Emanuel PO. Histopathologic identification of dermal filler agents. *J Drugs Dermatol.* 2010;9(9):1072–1078.
14. Greenwald RA, Moy WW. Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid. *Arthritis Rheum.* 1980 Apr;23(4):455-63.
15. Narins RS, Jewell, Rubin M, Cohen J, Strobos J, Clinical conference: management of rare events following dermal fillers-focal necrosis and angry red bumps. *Dermatol Surg* 2006; 32:426.
16. Balazs EA. (1991) Medical application of hyaluronan and its derivatives. Gebelein CG, Cheng F, Yang V, editors. *Cosmetic and pharmaceutical application of polymers.* London. Plenum Press; 293-310.
17. Dechert T.A., Ducale A.E., Ward S.I., Yager D.R. (2006): Hyaluronan in human acute and chronic dermal wounds. *Wound Repair and Regeneration*, 14, 252–258.
18. Kahmann J.D., O'Brien R., Werner J.M., Heinegard D., Ladbury J.E., Campbell I.D., Day A.J. (2000): Localization and characterization of the hyaluronan-binding site on the Link module from human TSG-6. *Structure*, 8, 763–774.
19. Martine Baspeyras, Céline Rouvrais, Laetitia

- Liégard, Alexandre
Delalleau, Sandrine
Letellier, Irène Bacle, Laetitia
Courrech, Pascale Murat, Valérie
Mengeaud, and Anne-Marie
Schmitt. Clinical and
biometrological efficacy of a
hyaluronic acid-based
mesotherapy product: a
randomised controlled study.
Published online 2013 May
29. doi: 10.1007/s00403-013-
1360-7.
20. Wang F, Garza LA, Kang S, et al.
In vivo stimulation of de novo
collagen production caused by
cross-linked hyaluronic acid
dermal filler injections in
photodamaged human skin. *Arch
Dermatol.* 2007;143:155–163.
21. Lacarrubba F, Tedeschi A,
Nardone B, et al. Mesotherapy
for skin rejuvenation: assessment
of the subepidermal low-
echogenic band by ultrasound
evaluation with cross-sectional
B-mode scanning. *Dermatol
Ther.* 2008;21(Suppl 3):S1–S5.
22. Kerscher M, Bayrhammer J,
Reuther T. Rejuvenating
influence of a stabilized
hyaluronic acid-based gel of
nonanimal origin on facial skin
aging. *Dermatol
Surg.* 2008;34:720–726.
23. Reuther T, Bayrhammer J,
Kerscher M. Effects of a three-
session skin rejuvenation
treatment using stabilized
hyaluronic acid-based gel of non-
animal origin on skin elasticity: a
pilot study. *Arch Dermatol
Res.* 2010;302:37–45.
24. Stefanie Williams, Slobodanka
Tamburic, Henriette Stensvik,
Mateja Weber. Changes in skin
physiology and clinical
appearance after microdroplet
placement of hyaluronic acid in
aging hands. *Journal of Cosmetic
Dermatology,* 2009,8, 216–225.
25. Doillon CJ, Silver FH, Berg RA.
Fibroblast growth on a porous
collagen sponge containing
hyaluronic acid and fibronectin.
Biomaterials 1987; 8: 195–200.

26. Fisher GJ, Varani J, Voorhees JJ. Looking older: fibroblast collapse and therapeutic implications. *Arch Dermatol* 2008; 144: 666–72.
27. Yoneda M, Yamagata M, Suzuki S, Kimata K. Hyaluronic acid modulates proliferation of mouse dermal fibroblasts in culture. *J Cell Sci* 1988; 90: 265–73.
28. Fernanda Distante, Valerie Pagani, Adriana Bonfigli. Stabilized Hyaluronic Acid of Non-animal Origin for Rejuvenating the Skin of the Upper Arm. *Dermatol Surg* 2009;35:389–394.
29. Balazs E.A., Denlinger J.L. (1984): The role of hyaluronic acid in arthritis and its therapeutic use. In: Peyron J.G. (ed.): *Osteoarthritis: Current Clinical and Fundamental Problems*. Geigy, Basle Geigy. 165–174.
30. Liu N., Gao F., Han Z., Xu X., Underhill Ch.B., Zhang L. (2001): Hyaluronan synthase 3 overexpression promotes the growth of TSU prostate cancer cells. *Cancer Research*, 61, 5207–5214.
31. Harold J. Use of Hialuronidase in the tratament of granulomatous hyaluronic acid reactions or unwanted hialuronic acid misplacement. *Derm Surg* 2005;31:893-897.
32. Evanko SP, Angello JC, Wight TN (1999) Formation of hyaluronan- and versican-rich pericellular matrix is required for proliferation and migration of vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 1004–1013.
33. Nandi A, Estess P, Siegelman M (2004) Bimolecular complex between rolling and firm adhesion receptors required for cell arrest; CD44 association with VLA-4 in T cell extravasation. *Immunity* 20: 455–465.
34. Davide Vigetti, Eugenia Karousou, Manuela Viola, Sara Deleonibus, Giancarlo De Luca, Alberto Passi. Hyaluronan:

- Biosynthesis and signaling. *Biochimica et Biophysica Acta* xxx (2014).
35. Mendoza G, Alvarez AI, Pulido MM, Molina AJ, Merino G, Real R, Fernandes P, Prieto JG. Inhibitory effects of different antioxidants on hyaluronan depolymerization. *Carbohydr Res.* 2007 Jan 15;342(1):96-102.
36. Taieb M, Gay C, Sebban S, Secnazi P. Hyaluronic acid plus mannitol treatment for improved skin hydration and elasticity. *J Cosmet Dermatol.* 2012 Jun;11(2):87-92.
37. Alam M, Dover JS. Management of complications and sequelae with temporary injectable fillers, *Plast reconstr Surg* 2007;120:98S.
38. Klein W. Granulomatous foreign body reaction against hyaluronic acid, letter to editor. *Dermatol surg* 2004;30:1070.
39. Alijotas-Reig J, García-Jimenez V. Delayed immune-mediated adverse effects related to hyaluronic acid and acrylic hydrogel dermal fillers: clinical findings, long-term follow-up and review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22:150.
40. Christensen L, Breiting V, Janssen M, Vuust J, Hogdall E. Adverse reactions to injectable soft tissue permanent fillers. *Aesthetic Plast Surg* 2005;29:34.
41. Friedman PM, Mafung EA, Kauvar AN, Geronemus RG. Safety data of injectable nonanimal stabilized soft tissue augmentation. *Dermatol Surg* 2002;28:491.