



UNIVERSITÀ  
DI PAVIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Direttore Chiar.ma Prof.ssa Simona Collina

**LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN  
FARMACIA**

**Acido ialuronico: proprietà, funzioni biologiche e  
applicazioni in cosmetica e medicina estetica**

Relatore:  
Prof.ssa Sara Perteghella

Tesi di Laurea Magistrale a Ciclo Unico di  
*Luca Guerini*

Anno Accademico 2025/2026

# INDICE

---

1. INTRODUZIONE.....	3
2. ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE	7
2.1 Proprietà strutturali, fisico-chimiche e idrodinamiche dell'acido ialuronico.....	7
2.2 Sintesi dell'acido ialuronico nel corpo umano.....	11
2.3 Degradazione dell'acido ialuronico nel corpo umano.....	14
2.4 Funzioni biologiche dell'acido ialuronico e influenza del peso molecolare.....	15
2.5 Biologia dell'acido ialuronico: meccanismi d'azione.....	18
3. INVECCHIAMENTO CUTANEO E ACIDO IALURONICO.....	24
3.1 Invecchiamento cutaneo.....	24
3.2 Acido ialuronico e invecchiamento cutaneo.....	28
4. ACIDO IALURONICO IN COSMETICA.....	32
4.1 Le molecole alle quali si fa riferimento quando si parla di acido ialuronico.....	32
4.2 Tecnologie produttive dell'acido ialuronico in cosmetica.....	33
4.3 L'impiego di acido ialuronico in ambito cosmetico.....	37
5. ACIDO IALURONICO IN MEDICINA ESTETICA.....	42
5.1 Tecnologia produttiva dei filler iniettabili a base di acido ialuronico.....	44
5.2 Proprietà chimico-fisiche dei filler iniettabili a base di acido ialuronico.....	47

5.3 Filler iniettabili a base di acido ialuronico: fasi cliniche di intervento .....	50
6. EVIDENZE SCIENTIFICHE DI SICUREZZA.....	54
6.1 Ambito cosmetico .....	54
6.2 Medicina estetica: effetti collaterali e loro risoluzione.....	55
7. CONCLUSIONI.....	59
8. BIBLIOGRAFIA .....	62

## 1. INTRODUZIONE

L'acido ialuronico (HA – Hyaluronic Acid) è una molecola molto diffusa nel mondo animale: è quasi ubiquitaria negli esseri umani e negli altri vertebrati, e la sua presenza è stata riscontrata anche tra i batteri. Sin dalla sua scoperta, avvenuta negli anni '30 del Novecento, ha suscitato grande interesse sia in campo scientifico sia in quello industriale. Chimicamente si tratta di un polimero classificato come glicosaminoglicano (GAG), fisiologicamente molto abbondante nella cute, dove svolge un importante ruolo strutturale all'interno della matrice extracellulare. Oltre a ciò, è stato dimostrato che l'HA funge anche da molecola segnale nell'ambito della guarigione delle lesioni, essendo coinvolto in diversi processi quali l'infiammazione, la migrazione e la proliferazione cellulare.

Il primo report in cui si fa riferimento all'acido ialuronico risale al 1880: lo scienziato francese Portes osservò che la mucina contenuta nel corpo vitreo presentava un diverso comportamento rispetto ad altri mucoidi derivati da cornea e cartilagini, e la chiamò "ialomucina". Dopo circa cinquant'anni, nel 1934 Meyer e Palmer descrissero un metodo per isolare un nuovo glicosaminoglicano dall'umor vitreo bovino, e lo chiamarono acido ialuronico dall'unione del termine di derivazione greca "ialoide" (vitreo) con "acido uronico". Tra gli anni '30 e '50 del Novecento l'HA fu isolato anche dal cordone ombelicale umano, dalla cresta di gallo e da streptococchi. Dagli anni '40 iniziarono ad esserne ampiamente studiate le proprietà chimico-fisiche, e nel 1954 venne

## 1 - INTRODUZIONE

risolta la sua struttura chimica a opera di Meyer e Weissmann. Dalla seconda metà del ventesimo secolo, la progressiva scoperta delle funzioni fisiologiche dell'HA condusse a un crescente interesse verso la sua produzione e sviluppo come prodotto medico, venendo incontro a numerose applicazioni cliniche. In questo modo vi furono continui progressi nei processi di estrazione da tessuti animali; tuttavia continuavano a permanere diversi problemi legati alla purificazione di contaminanti indesiderati (proteine e microorganismi). Per provare a risolvere questi inconvenienti, i primi studi per ottenere l'HA tramite processi di fermentazione biotecnologici e di sintesi chimica iniziarono verso la fine degli anni '60. Nel 1979 Balazs riuscì a produrre il primo HA di grado farmaceutico: egli mise a punto un metodo efficiente grazie al quale è possibile estrarre e purificare HA dalla cresta di gallo e dal cordone ombelicale umano; da qui prese il via la produzione industriale su vasta scala di HA.

Oggigiorno l'HA trova applicazione in moltissimi ambiti: trattamento dell'osteoartrite mediante iniezioni intra-articolari; lubrificante oculare in colliri e gel oftalmici; biomateriale nel campo dell'ingegneria tissutale; nel settore farmaceutico è considerato un promettente veicolo nella terapia antitumorale e nel direccionamento dei farmaci (drug delivery), così da migliorarne l'efficacia terapeutica; in dermatologia trova impiego nel trattamento delle ferite e di alcune condizioni patologiche come rosacea e dermatite seborroica; in rinologia e pneumologia è usato in formulazioni spray o aerosol per trattare infiammazioni nasali o polmonari; in campo urologico sono allo studio

## 1 - INTRODUZIONE

impieghi intra-vescicali di HA per ridurre sintomi e ricorrenza delle infezioni urinarie; in medicina estetica viene usato come filler iniettabile; in cosmetica e nel campo degli integratori alimentari (nutri-cosmetica) ne esistono diverse formulazioni studiate per rispondere alle necessità di migliorare i segni dell'invecchiamento cutaneo e aumentare l'idratazione cutanea. Questa grande gamma di applicazioni è resa possibile da diversi punti di forza dell'HA: è un materiale biocompatibile e biodegradabile, possiede proprietà di mucoadesione, è igroscopico e viscoelastico, è producibile su larga scala a livello industriale, inoltre offre la possibilità di essere modificato chimicamente per ottenere, partendo dalla sua struttura originale, nuove molecole con differenti proprietà sulla base dell'utilizzo voluto. Le operazioni di idrolisi o di funzionalizzazione tramite coniugazione e crosslinking vengono condotte al fine di migliorarne le caratteristiche intrinseche di stabilità, di capacità di formare gel, di penetrazione della pelle, oppure per ottenere nuove funzionalità.

Le applicazioni topiche di acido ialuronico consistono in interventi non invasivi, con dimostrati effetti benefici in termini di qualità cutanea e di miglioramento dei segni dell'invecchiamento; nonostante ciò, spesso gli utilizzatori accantonano questi tipi di trattamento decidendo di sottoporsi a procedure estetiche più invasive quali i filler iniettabili.

Data la grande varietà dei suoi possibili usi, questo lavoro di tesi si propone di offrire una panoramica sulle numerose applicazioni in ambito cosmetico dell'acido ialuronico e delle molecole ad esso

## 1 - INTRODUZIONE

correlate. Sarà svolto un approfondimento sulla struttura dell'HA e sulle sue proprietà chimico-fisiche, dopodiché verrà trattato il suo metabolismo e saranno analizzate le funzioni che esso svolge a livello fisiologico. Verranno poi considerati gli usi dell'HA in cosmetica e le relative formulazioni che si possono trovare in commercio, per poi descriverne l'impiego anche in medicina estetica. A seguire, sarà condotta un'analisi della letteratura scientifica per richiamare le prove a supporto dell'efficacia e della sicurezza d'impiego di questi prodotti. Infine, saranno esaminati i possibili effetti avversi dell'uso di HA e si farà cenno ai possibili rimedi che esistono per risolverli.

## 2. ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

### 2.1 Proprietà strutturali, fisico-chimiche e idrodinamiche dell'acido ialuronico

L'acido ialuronico (HA) è un polimero naturale non ramificato che appartiene a un gruppo di etero-polisaccaridi chiamati glicosaminoglicani (GAGs), diffusi nel tessuto epiteliale, connettivo e nervoso dei vertebrati. Tutti i GAGs (ad esempio acido ialuronico, condroitina solfato, dermatan solfato, cheratan solfato, eparan solfato ed eparina) sono caratterizzati dalla stessa struttura base che consiste nella ripetizione di un'unità disaccaridica composta da un amminozucchero (N-acetil-glucosamina o N-acetil-galattosamina) e da uno zucchero uronico (acido glucuronico, acido iduronico) o galattosio.

Tabella 1 – Composizione e caratteristiche dei principali Glicosaminoglicani

Nome	Zuccheri costituenti	Solfato	Peso Molecolare (Da)
<b>Acido ialuronico</b>	Acido glucuronico Glucosamina	NO	$10^5-10^8$
<b>Condroitina solfato</b>	Acido glucuronico Galattosamina	SI	$10-50 \times 10^3$
<b>Dermatan solfato</b>	Acido iduronico Galattosamina	SI	$10-50 \times 10^3$
<b>Cheratan solfato</b>	Galattosio Glucosamina	SI	$5-15 \times 10^3$
<b>Eparan solfato</b>	Acidi glucuronico e iduronico Glucosamina	SI	$10-50 \times 10^3$
<b>Eparina</b>	Acidi glucuronico e iduronico Glucosamina	SI	$5-20 \times 10^3$

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

L'HA differisce dagli altri GAGs sia perché non è solfato, sia perché la sua sintesi non avviene nell'apparato di Golgi in associazione a proteine. Al contrario, la sua produzione avviene sul lato interno della membrana plasmatica cellulare, senza che vi sia alcun legame covalente con un core proteico. Inoltre, l'HA può raggiungere un peso molecolare (Molecular Weight – MW) molto elevato (HMW,  $10^8$  Da), mentre gli altri GAGs hanno dimensioni relativamente inferiori ( $< 10^4$  Da).

La struttura primaria dell'HA consiste in una catena lineare composta da acido D-glucuronico e da N-acetil-D-glucosamina, tra loro connessi tramite legame  $\beta$ -1,3 glicosidico. A loro volta, questi disaccaridi che costituiscono l'unità strutturale fondamentale sono collegati da legami  $\beta$ -1,4 glicosidici (Figura 1).

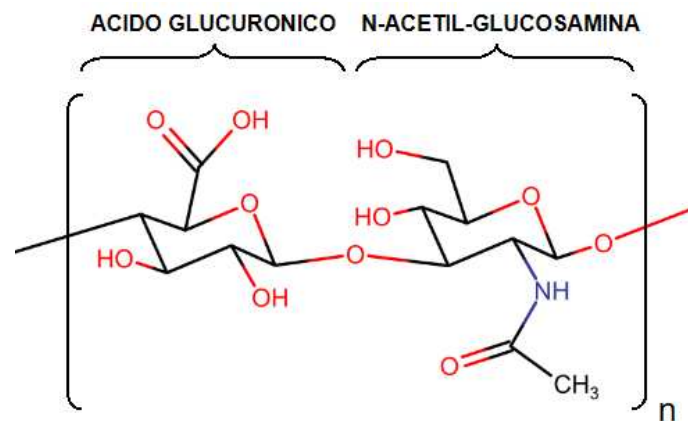


Figura 1 - Struttura primaria dell'acido ialuronico

Quando entrambi i monosaccaridi sono in configurazione  $\beta$ , si determina una struttura molto stabile, visto che i gruppi funzionali più ingombranti (idrossili, carbossile, ammina acetilata, carbonio anomero) si trovano in posizione equatoriale (che è stericamente

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

favorita), mentre i più piccoli atomi di idrogeno occupano la posizione assiale (che è energeticamente meno favorita). In questo modo, la rotazione attorno al legame glicosidico dello scheletro di base dell'HA risulta limitata, e ciò porta allo stabilirsi di una conformazione globale piuttosto rigida in cui le porzioni idrofobiche (gruppi C-H) sono alternate a porzioni idrofiliche polari, tra cui si instaurano legami a idrogeno (legami H) intra- e inter-molecolari. In condizioni di pH fisiologico il gruppo carbossilico è carico negativamente, e può essere controbilanciato da cariche positive derivanti da ioni  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ . In soluzione acquosa, perciò, l'HA è carico negativamente e forma sali, generalmente chiamati ialuronati, che sono molto idrofilici e sono circondati da molte molecole di acqua. Più precisamente, come mostrato in Figura 2, l'acqua si dispone tra un gruppo carbossilico e uno acetammidico tramite legami a idrogeno, facendo sì che si stabilizzi una struttura secondaria del biopolimero, descritta come un'elica sinistrorsa a singolo filamento, con due residui disaccaridici per ogni rotazione completa.

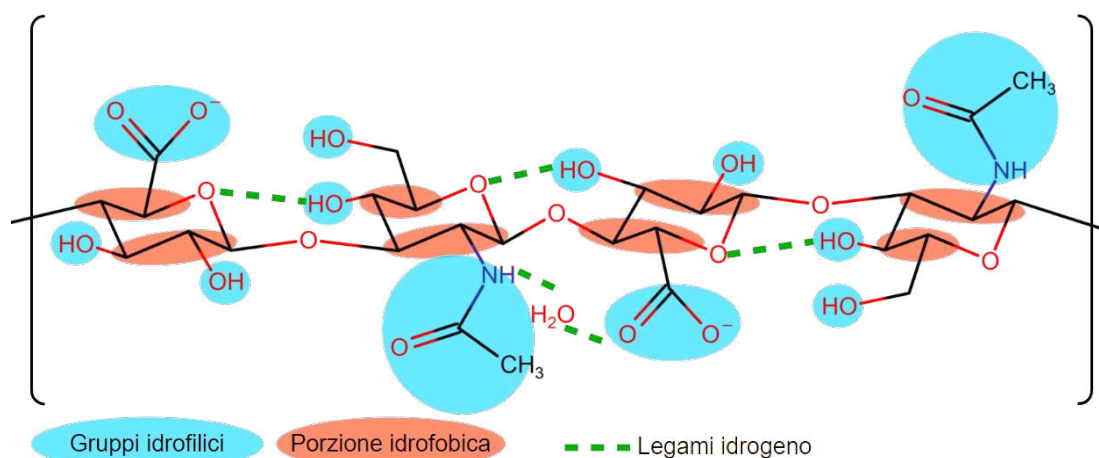


Figura 2 - Molecola di acido ialuronico in soluzione acquosa: interazioni

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

In soluzione acquosa, le eliche di HA formano accoppiamenti (ad esempio una struttura terziaria a foglietti  $\beta$ ), per via dell'instaurarsi di interazioni idrofobiche e di legami a idrogeno inter-molecolari tra catene antiparallele, che permettono l'aggregazione delle catene polimeriche con la creazione di un'estesa rete. La realizzazione di questa rete polimerica dipende dal peso molecolare dell'HA e dalla sua concentrazione in soluzione; per esempio, l'acido ialuronico nativo ad alto peso molecolare (HMW-HA – MW > 10<sup>6</sup> Da) è in grado di creare un'estesa rete anche alle concentrazioni molto basse di 1  $\mu$ g/mL. Al crescere del peso molecolare e della concentrazione, i network di HA acquisiscono forza e la soluzione mostra un progressivo aumento della viscosità e della viscoelasticità. Poiché lo ialuronato è un poli-elettrolita, le sue proprietà in soluzione acquosa sono influenzate anche dalla forza ionica, dal pH e dalla temperatura: quando questi fattori subiscono un aumento, si assiste a un rapido decremento della viscosità, il che suggerisce che si determini un indebolimento del network inter-molecolare tra le varie catene polimeriche. Tra tutti questi fattori, l'HA è molto sensibile soprattutto alle variazioni di pH: in ambienti molto acidi o molto basici si instaura un labile bilancio tra forze repulsive e attrattive, così che a pH inferiori a 4 o superiori a 11 l'HA subisce una rapida degradazione per idrolisi. In condizioni alcaline questo effetto è più accentuato, per via della rottura dei legami a idrogeno che sono fondamentali nella creazione delle catene polimeriche. Per quanto evidenziato, il profilo reologico dell'HA dipende sia dalle sue proprietà strutturali, sia dalla caratteristica di

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

essere un poli-elettrolita. Le soluzioni di HA sono caratterizzate da un comportamento non-Newtoniano, pseudoplastico e viscoelastico. La pseudoplasticità deriva dalla progressiva rottura dei legami a idrogeno inter-molecolari e delle interazioni idrofobiche, indotta dall'aumento della velocità di taglio: a seguito dello scorrimento, le catene polimeriche di HA si deformano e si allineano, e questo determina una riduzione della viscosità. Inoltre, le soluzioni di HA sono non-tixotropiche: al decrescere della velocità di taglio, fino a giungere al suo azzeramento, viene completamente recuperata la struttura originale e con essa anche la viscosità di partenza. Ne deriva che la rottura dei legami inter-molecolari è transitoria e reversibile: questo comportamento reologico è pressoché unico e molto importante, poiché è su questa proprietà che si basano diversi ruoli fisiologici, così come alcune applicazioni farmaceutiche, mediche e cosmetiche degli ialuronati.

### 2.2 Sintesi dell'acido ialuronico nel corpo umano

In natura l'acido ialuronico è presente nell'uomo, in animali (ad esempio bovini, galli, squali), in batteri (ad esempio diverse specie del genere *Streptococcus*), in alghe (ad esempio diverse specie di alga verde *Chlorella*), in lieviti (ad esempio *Cryptococcus neoformans*) e in molluschi. Non è invece stato rilevato in funghi, piante e insetti.

Nel corpo umano, il contenuto totale di HA è all'incirca di 15 g per un adulto di peso medio pari a 70 kg. L'HA si distribuisce principalmente intorno alle cellule, dove crea una sorta di rivestimento pericellulare, e all'interno della matrice extracellulare (ECM) nei tessuti connettivi.

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

Circa il 50% dell'intero contenuto di HA risiede nella cute, e si ritrova sia nel derma che nell'epidermide. Nel comparto epidermico vi è una sintesi maggiore di HA negli strati basale e spinoso; nel derma invece è particolarmente pronunciata nei fibroblasti localizzati in prossimità delle papille dermiche. Tra i fluidi corporei, la concentrazione più alta di HA è stata riscontrata nel fluido sinoviale delle articolazioni ( $1.400 \div 3.600 \mu\text{g/g}$ ), essendo principalmente composto da ECM; la più bassa invece è stata misurata nel sangue ( $0,01 \div 0,1 \mu\text{g/g}$ ). L'emivita dell'HA nella cute è di circa un giorno, e questo presuppone un processo di sintesi e degradazione piuttosto rapido per riuscire ad assicurare il giusto tasso di ricambio.

Nel corpo umano l'acido ialuronico è sintetizzato come polimero lineare da tre isoenzimi trans-membrana (glicosil-transferasi) chiamati ialuronato sintasi (HAS): HAS1, HAS2 e HAS3. Sono tutti e tre caratterizzati da sette regioni trans-membrana e da un dominio citoplasmatico centrale, con un sito catalitico localizzato verso il lato interno della membrana plasmatica. L'espressione e l'attività delle diverse isoforme di HAS sono finemente regolate da citochine, fattori di crescita e altre proteine (come alcune chinasi) in diversi modi, che sembrano essere specifici a seconda del tipo cellulare e del tessuto di appartenenza. Le catene crescenti di HA sono direttamente estruse sulla superficie cellulare o nella matrice extracellulare attraverso la membrana plasmatica, e questa modalità di biosintesi è pressoché unica per le macromolecole: acidi nucleici, proteine, lipidi e carboidrati sono sintetizzati nel nucleo, nel reticolo endoplasmatico / apparato di

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

Golgi o nel citoplasma. L'estrusione della catena nascente nello spazio extracellulare permette una crescita libera del polimero, che così riesce a raggiungere l'elevato peso molecolare che lo caratterizza: il confinamento della sintesi all'interno di un apparato porterebbe a limitare la lunghezza della catena in formazione, e potrebbe inoltre creare, data l'elevata viscosità dell'HA, un ambiente sfavorevole al funzionamento degli altri organelli cellulari. Nonostante ciò, la presenza di HA è stata rilevata anche a livello intracellulare, dove alcuni studi hanno messo in luce un suo ruolo nel ciclo cellulare, nella traduzione e nello splicing di RNA, e anche nell'autofagia. Le tre diverse isoforme di HAS presentano tra loro diverse proprietà e comportamento di sintesi: HAS1 è l'isoforma meno attiva, e produce HA ad alto peso molecolare (HMW-HA, da  $2 \times 10^5$  a  $2 \times 10^6$  Da). HAS2 è più attivo e sintetizza catene maggiori di  $2 \times 10^6$  Da; nelle normali cellule adulte rappresenta il principale enzima di sintesi dell'HA, e la sua attività regola anche i processi di sviluppo e riparazione nella crescita tissutale. Sembra inoltre essere coinvolto nell'infiammazione, nel cancro, nella fibrosi polmonare e nella formazione di cicatrici cheloidi. HAS3 è l'isoenzima più attivo, e produce catene di HA con MW inferiore a  $3 \times 10^5$  Da. Una regolazione alterata di questi enzimi o della loro espressione genica sfocia in un'anormale produzione di HA, il che conduce all'aumento del rischio di incorrere in eventi patologici, a risposte alterate della cellula agli eventi lesivi, e a processi biologici aberranti come possono essere le trasformazioni maligne e le metastasi. Sebbene gli esatti meccanismi di regolazione e di funzionamento degli

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

enzimi HAS non siano ancora stati del tutto chiariti, gli studi sono concordi nel ritenere che essi siano mediatori critici di processi sia fisiologici che patologici, poiché sono coinvolti in crescita, sviluppo, lesioni e malattie.

### 2.3 Degradazione dell'acido ialuronico nel corpo umano

Nel corpo umano la degradazione dell'HA avviene attraverso due vie: una specifica, che coinvolge enzimi chiamati ialuronidasi (HYALs); una aspecifica, determinata dal danno ossidativo indotto dalle specie reattive dell'ossigeno (ROS). In associazione, HYALs e ROS degradano localmente circa il 30% dei 15 g di HA contenuti nel corpo umano; il restante 70% viene catabolizzato a livello sistemico: lo ialuronato viene trasportato principalmente nella linfa verso i linfonodi, dove viene internalizzato e degradato dalle cellule endoteliali dei vasi linfatici. Inoltre, una piccola parte di HA viaggia attraverso il torrente circolatorio, per essere catabolizzata una volta raggiunte le cellule endoteliali epatiche. Gli enzimi HYALs rivestono un fondamentale ruolo regolatorio nel metabolismo dell'HA. Questi enzimi principalmente degradano gli ialuronati, ma sono anche in grado di catabolizzare altri GAGs come la condroitina e la condroitina solfato. Poiché le HYALs operano dei tagli casuali di legami  $\beta$ -1,4 glicosidici, esse sono classificate come endoglicosidasi. Nel genoma umano sono state identificate diverse sequenze geniche che codificano per differenti ialuronidasi: HYAL1, HYAL2, CEMIP (Cell Migration-Inducing and hyaluronan-binding Protein) e TMEM2 (TransMEMbrane protein 2) sono attive sia nel derma sia nell'epidermide. L'espressione di ciascuna

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

sembra essere tessuto-specifica. Questi enzimi sono sia extra- che intra-cellulari, degradando l'HA al di fuori della cellula o all'interno di endosomi o lisosomi. Nel derma, il recettore LYVE1 (LYmphatic Vessel Endothelial hyaluronan receptor-1) è coinvolto nella degradazione dell'HA e nell'uptake del sistema linfatico per lo smaltimento attraverso la linfa. L'HA ad alto peso molecolare può inoltre essere degradato in modo naturale nell'organismo dai ROS, tra cui superossido, perossido d'idrogeno, monossido d'azoto, e ipotalogenati, che sono prodotti in grande quantità durante infiammazioni, lesioni e carcinogenesi. I meccanismi di depolimerizzazione dell'HA variano in funzione delle specie coinvolte, ma in ogni caso quello che avviene è la rottura dei legami glicosidici. Alcuni studi hanno evidenziato che la frammentazione dell'HA dovuta all'azione delle specie reattive dell'ossigeno può incrementare il rischio di danni alle vie aeree, inoltre può determinare una riduzione della viscosità del liquido sinoviale portando a maggiore usura delle cartilagini, rigidità articolari e dolore. Grazie a questi meccanismi degradativi, che *in vivo* sono costantemente in funzione, è stato possibile stimare l'emivita dell'HA in diversi distretti anatomici: nella cute è circa 24 ore, nell'occhio circa 24-36 ore, nelle cartilagini circa 1-3 settimane e nell'umor vitreo circa 70 giorni.

### 2.4 Funzioni biologiche dell'acido ialuronico e influenza del peso molecolare

L'equilibrio tra sintesi e degradazione dell'acido ialuronico riveste un importante ruolo all'interno del corpo umano, perché da questo dipende non solo il contenuto totale di HA, ma anche il suo MW. Il

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

peso molecolare e le attività di sintesi o catabolismo sono i fattori chiave che incidono sulle funzioni biologiche dell'HA. Difatti l'acido ialuronico ad alto peso molecolare (HMW) e quello a basso peso molecolare (LMW) sono in grado di svolgere azioni tra loro anche opposte, e quando sono presenti simultaneamente in un certo tessuto possono esercitare un'azione globale che è diversa dalla semplice somma dei singoli effetti derivanti dal relativo MW. In sede extracellulare, l'HMW-HA è anti-angiogenico, poiché in grado di inibire la migrazione e la proliferazione delle cellule endoteliali; inoltre, grazie alla sua viscoelasticità, agisce come lubrificante nel fluido sinoviale contribuendo a preservare le cartilagini delle articolazioni. Inoltre, riveste un ruolo importante e benefico durante l'infiammazione, nella rigenerazione tissutale a seguito di lesioni, nella guarigione dalle ferite e nell'immunosoppressione: lega il fibrinogeno e controlla l'arruolamento delle cellule dell'infiammazione, i livelli delle citochine pro-infiammatorie e la migrazione delle cellule staminali.

Nell'ambito di alcune condizioni patologiche, come asma, fibrosi polmonare, ipertensione, BPCO e artrite reumatoide, l'HMW-HA viene degradato in LMW-HA: è stato dimostrato che quest'ultimo possiede attività pro-infiammatoria e pro-angiogenica, essendo in grado di stimolare la produzione di citochine pro-infiammatorie, chemochine e fattori di crescita, oltre che stimolare la rimodellazione dell'ECM.

Gli oligosaccaridi di HA (oHA) e i frammenti di HA ( $MW < 2 \times 10^4$  Da) hanno mostrato di possedere proprietà sia pro- che anti-infiammatorie, questo a seconda del tipo cellulare e della condizione patologica in

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

corso. Alcuni studi hanno evidenziato che gli oHA sono in grado di ridurre il numero di recettori TLR (Toll-Like Receptor) mediatori di infiammazione, di inibire l'attivazione di chinasi causata dal legame tra HA e recettore CD44 (Cluster di Differenziazione 44) e di ritardare l'accrescimento dei tumori. Comunque, è stato anche osservato che gli oHA promuovono l'infiammazione nei fibroblasti sinoviali, stimolano l'adesione cellulare e incrementano l'angiogenesi durante la guarigione delle ferite.

Nella cute, l'HA riveste un ruolo chiave nell'assicurare integrità e stabilità dell'ECM, creando una rete coesiva tra i suoi diversi componenti. L'HA extra-cellulare è stabilizzato dalle interazioni con i proteoglicani e con proteine come il collagene, portando alla formazione di un gel amorfo che circonda le cellule circostanti. La capacità dell'HA di creare reti e le sue proprietà viscoelastiche contribuiscono all'architettura, all'elasticità e all'idratazione del tessuto cutaneo. L'idratazione è fondamentale nel contributo in favore delle proprietà biomeccaniche della cute: grazie alla sua azione legante acqua, l'HA idrata la matrice extra-cellulare e regola il contenuto idrico del tessuto cutaneo, inoltre è in grado di interagire con l'acquaporina 3, responsabile del trasporto di acqua transmembrana. La corretta idratazione del tessuto permette anche che avvenga la libera circolazione di ioni e nutrienti in soluzione. In merito alle proprietà antiossidanti che gli sono state attribuite, è stato osservato che esse potrebbero derivare non tanto da un'azione diretta come "spazzino" (scavenger) dei ROS, ma piuttosto da un effetto indiretto dovuto alla

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

sua interazione con elementi in grado di regolare lo stato ossidativo cellulare: nei fibroblasti cutanei, l'HMW-HA riesce a ridurre lo stress ossidativo indotto dal perossido di idrogeno, per via della capacità di aumentare le attività enzimatiche di SOD (SuperOssido Dismutasi, che converte i radicali superossido in acqua ossigenata  $H_2O_2$  e ossigeno molecolare  $O_2$ ) e della catalasi (che converte  $H_2O_2$  in acqua e  $O_2$ ), oltre che riducendo la presenza di malondialdeide (MDA – marcatore di stress ossidativo e perossidazione lipidica).

Per quanto sopra riportato, oggi risulta ormai chiaro che l'HA sia una molecola chiave coinvolta in molti processi fisiologici e patologici. Tuttavia, nonostante i numerosi studi compiuti sin dalla sua scoperta, non sono ancora stati completamente chiariti tutti i suoi ruoli biologici, i fattori che ne determinano l'accumulo nei tessuti connettivi trasformati e le conseguenti progressioni tumorali, la loro dipendenza dal peso molecolare dell'HA e dalla sua localizzazione (intra- o extra-cellulare).

### 2.5 Biologia dell'acido ialuronico: meccanismi d'azione

L'HA svolge le sue funzioni biologiche attraverso due principali meccanismi: esso può agire passivamente in termini di molecola strutturale, oppure può farlo attivamente rivestendo il ruolo di molecola segnale. È stato mostrato che entrambe queste tipologie di azione sono dipendenti dal peso molecolare.

Il meccanismo di tipo passivo deriva dalle proprietà fisico-chimiche dell'HA ad alto peso molecolare (HMW-HA): per via delle sue caratteristiche di viscoelasticità, di igroscopicità, e delle sue elevate

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

dimensioni molecolari, esso è in grado di modulare l'idratazione tissutale, il bilancio osmotico e le proprietà fisiche della matrice extracellulare, contribuendo a formare un ambiente extracellulare idratato e stabile entro cui le cellule e le fibre di collagene ed elastina, così come gli altri componenti extracellulari, riescono ad essere ben mantenuti nel tempo.

L'HA agisce anche come molecola segnale interagendo con le sue proteine di legame. In funzione del peso molecolare dell'HA, della localizzazione effettiva e di fattori cellulari specifici (espressione recettoriale, pathway di segnalazione e momento del ciclo cellulare), il legame tra l'HA e le relative proteine di legame può indurre effetti opposti: attività pro- o anti-infiammatoria, attivazione o blocco di proliferazione e differenziazione cellulari, stimolazione o inibizione della migrazione cellulare. Le proteine che legano l'HA possono essere distinte in proteoglicani leganti l'HA (ialoderine extra-cellulari o di matrice) e in recettori di superficie (ialoderine cellulari). L'HA ha mostrato avere due diversi meccanismi molecolari d'interazione con le sue ialoderine. Innanzitutto, esso può interagire in modo autocrino sui recettori della stessa cellula da cui proviene. Inoltre, può comportarsi da sostanza paracrina, andando a legare i recettori delle cellule vicine così da attivare diverse cascate di segnalazione intracellulari. Inoltre, se l'HA possiede elevato peso molecolare, una singola catena può simultaneamente interagire con diversi recettori di superficie cellulare e può legare molti proteoglicani. Queste strutture, a loro volta, possono aggregare altri elementi della matrice extracellulare

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

e formare complessi, che vengono così legati alla superficie cellulare attraverso i recettori dell'HA. Agendo in questo modo, l'HA può creare un'impalcatura (scaffold) che stabilizza l'ECM, e ciò avviene dunque non solo per merito delle sue proprietà strutturali passive, ma anche in forza di un'azione attiva che si esercita attraverso legami recettoriali con le ialoaderine extracellulari, come ad esempio gli aggregani (presenti nelle cartilagini), i neurocani o i brevicani (nel sistema nervoso centrale) e i versicani (in diversi tessuti molli). Per questi motivi, l'HA pericellulare è coinvolto nel mantenimento della stabilità e della funzionalità dei tessuti connettivi, così come nella loro protezione dai fattori ambientali.

L'interazione dell'HA con i suoi recettori di superficie è in grado di mediare tre diversi processi biologici: la trasduzione del segnale, la formazione di un rivestimento pericellulare e l'internalizzazione recettore-mediata. Per questo motivo saranno di seguito riassunte le caratteristiche dei recettori superficiali dell'HA.

Il principale recettore di superficie per l'HA è CD44, una glicoproteina trans-membrana multifunzionale, espressa attraverso molte isoforme diffuse in quasi tutte le tipologie cellulari della specie umana. CD44 può interagire non soltanto con l'HA, ma anche con diversi fattori di crescita, citochine e proteine extracellulari (ad esempio la fibronectina). Il dominio intracellulare di CD44 interagisce con il citoscheletro: in questo modo, quando il dominio extracellulare si lega all'HA presente nell'ECM, si stabilisce un collegamento tra il biopolimero e la struttura del citoscheletro. L'interazione tra HA e CD44 è coinvolta in molti

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

percorsi di segnalazione intracellulari che regolano diversi processi della cellula: l'internalizzazione dell'HA mediata da recettori (per una sua successiva degradazione), l'angiogenesi, la migrazione cellulare, la proliferazione cellulare, l'aggregazione e l'adesione a diversi componenti dell'ECM. Per questo CD44 gioca un ruolo chiave nell'infiammazione e nella guarigione delle ferite. Per quanto riguarda più nello specifico l'epidermide, l'interazione HA-CD44 contribuisce alla polarizzazione dei cheratinociti e alla sintesi lipidica che avviene nello strato granulare, entrambi processi propedeutici alla formazione dello strato corneo dei futuri corneociti, svolgendo dunque un'azione barriera. Nell'epidermide di pazienti con dermatite atopica è stata osservata una sovra-espressione di HAS3, perciò tale anomalia è stata correlata a condizioni infiammatorie. L'attivazione anomala delle cascate di segnale operate da HA-CD44, così come la sovra-espressione o l'aumento di attività (up-regulation) di CD44 (dovuti a citochine pro-infiammatorie come l'interleuchina IL-1, o fattori di crescita come EGF – Epidermal Growth Factor) può condurre allo sviluppo di lesioni patologiche o a condizioni come la trasformazione tumorale maligna. Infatti, si è osservato come CD44 sia sovra-espresso in molti tumori solidi, come il cancro a pancreas, mammella e polmoni.

Il recettore RHAMM (Receptor for HA-Mediated cell Motility) è anche conosciuto come CD168, ed è stata la prima ialoderina cellulare ad essere isolata. Esiste in diverse isoforme, e può essere ritrovato sia nella membrana cellulare, sia nello spazio citoplasmatico o nel nucleo. Una volta legato all'HA, il RHAMM di superficie è in grado di mediare e

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

promuove la migrazione cellulare; quello intracellulare modula il ciclo cellulare, oltre che la formazione e l'integrità del fuso mitotico. L'interazione HA-RHAMM svolge un ruolo importante nell'infiammazione e nella riparazione tissutale, innescando una varietà di percorsi di segnalazione che sono in grado di controllare il funzionamento di cellule come i macrofagi e i fibroblasti.

Il recettore HARE (Hyaluronan Receptor for Endocytosis) è stato inizialmente isolato dalle cellule endoteliali epatiche, linfonodali e spleniche, ma in seguito è stato rinvenuto anche nelle cellule endoteliali di occhio, cervello, rene e cuore. È in grado di legare non solo l'HA, ma anche altri GAGs, ad eccezione di cheratan solfato, eparan solfato ed eparina. È coinvolto nella clearance dei GAGs dal torrente circolatorio.

Un altro recettore dell'HA, già citato in precedenza, è il recettore LYVE1 (LYmphatic Vessel Endothelial hyaluronan receptor-1). È espresso nell'endotelio vascolare linfatico e nei macrofagi, dove controlla il turnover di HA mediando il suo trasferimento dai tessuti alla linfa. Perciò LYVE1 è coinvolto nella regolazione dell'idratazione tissutale e delle proprietà biomeccaniche. Oltre a ciò, LYVE1 forma complessi con fattori di crescita, prostaglandine e altri mediatori implicati nella regolazione di linfo-angiogenesi e adesione intercellulare.

Infine, l'HA è coinvolto nella regolazione dell'attività dei recettori TLRs (Toll-Like Receptors) che, essendo in grado di riconoscere lipopolisaccaridi e lipopeptidi, sono deputati all'attivazione della

## 2 - ACIDO IALURONICO: PROPRIETÀ E FUNZIONI BIOLOGICHE

risposta immunitaria di tipo innato. In letteratura sono stati proposti due diversi meccanismi per provare a spiegare come l'HA sia in grado di influenzare i TLRs. Il primo ipotizza che lo ialuronato a basso peso molecolare (LMW-HA) agisca da agonista nei confronti dei recettori TLR2 e TLR4, causando la reazione infiammatoria. Al contrario, in accordo alla seconda teoria, l'HA non lega direttamente i TLRs, ma ne influenza l'attività in virtù della barriera viscosa che è in grado di creare a livello pericellulare: in condizioni fisiologiche, l'HMW-HA crea uno strato protettivo molto denso e viscoso attorno alla cellula, coprendo i recettori di superficie (come i TLRs) e limitando la loro interazione con i rispettivi ligandi. A infiammazione in corso, avviene uno squilibrio tra sintesi e degradazione di HA, con conseguente alterazione di viscosità e spessore dello strato pericellulare. Nello specifico, si osserva una maggiore degradazione di HA per via dell'abbassamento di pH, dell'aumento dei ROS e della possibile presenza di patogeni in grado di produrre ialuronidasi degradative (HYALs). Da ciò consegue una riduzione del peso molecolare dell'HA, che comporta una minor capacità del polimero di legare acqua e una riduzione di spessore e viscosità dello scudo pericellulare. Il risultato è una maggiore accessibilità dei recettori di superficie ai loro ligandi, così da poter dare il via alla risposta immunitaria innata e accrescere la risposta infiammatoria. Per questi motivi, si pensa che l'HA possa essere coinvolto nella patogenesi di malattie sostenute da alterazioni dei processi immunologici.

## 3. INVECCHIAMENTO CUTANEO E ACIDO IALURONICO

### 3.1 Invecchiamento cutaneo

La pelle è l'organo più esteso del corpo umano e fisiologicamente svolge numerose funzioni: in primis costituisce una barriera fisica in grado di proteggere gli organi interni dall'effetto dannoso dei fattori ambientali esterni, come possono esserlo le sollecitazioni meccaniche, fisiche e chimiche. Uno dei componenti fondamentali del tessuto cutaneo è la matrice extracellulare (ECM), che riempie lo spazio tra le varie cellule e garantisce l'integrità del tessuto cutaneo. L'ECM contiene proteine fibrose insolubili (collagene ed elastina), glicoproteine, fibronectine e laminine. Il collagene è uno tra i più importanti costituenti della struttura cutanea; nel derma esso forma un network di fibre lasse in grado di conferire integrità strutturale, elasticità e resistenza. Il collagene entra in gioco anche durante i processi di guarigione dalle ferite, agevolando la migrazione e la proliferazione di nuove cellule, regolando l'infiammazione e stimolando la rigenerazione del tessuto danneggiato. L'elastina è essenziale nella riparazione tissutale e consente alla cute di mantenere elasticità e resistenza agli insulti meccanici. La fibronectina velocizza la guarigione delle ferite, facilitando l'adesione e la migrazione cellulari. La laminina è un componente chiave delle membrane cellulari, poiché svolge un importante ruolo nel mantenimento dell'integrità cutanea. Il componente più importante dell'ECM è però l'acido ialuronico,

### 3 - INVECCHIAMENTO CUTANEO E ACIDO IALURONICO

caratterizzato dalle sue spiccate proprietà idrofiliche. L'HA è responsabile del mantenimento dell'integrità strutturale dell'ECM e dell'idratazione tissutale, ed è coinvolto nel processo di guarigione dalle lesioni. Inoltre, conferisce alla pelle le sue proprietà ammortizzanti formando una rete di legami con le proteine dell'ECM. Ad una riduzione del contenuto di HA nella pelle, consegue un incremento del rischio di incorrere in danni meccanici. HA, collagene ed elastina vengono prodotti all'interno di fibroblasti e cheratinociti, le tipologie cellulari più importanti del derma. Una presenza adeguata di HA, collagene ed elastina nella pelle ne assicura il corretto funzionamento e un aspetto giovanile.

La pelle svolge anche funzioni immunologiche: essa, di fatto, consiste in un'estesa rete di cellule come cheratinociti, fibroblasti, cellule endoteliali, leucociti, macrofagi, mastociti e cellule di Langerhans, oltre che di peptidi antimicrobici solubili, citochine e chemochine, che nel loro complesso costituiscono il sistema immunitario cutaneo.

Per tutto quanto sintetizzato, si può comprendere come la cute sia in grado di regolare molti processi importanti per il corpo umano, quali l'angiogenesi, l'infiammazione e la guarigione dalle ferite, mentre al contempo svolge un ruolo fondamentale nel prevenire il contagio da parte di microorganismi patogeni. Con l'invecchiamento, l'efficienza dei sistemi di riparazione cellulari si riduce, e il funzionamento del sistema immunitario cutaneo si affievolisce. Tra i risultati dell'invecchiamento figura anche una riduzione numerica dei fibroblasti cutanei, così come della loro funzione. Essi sintetizzano una

### 3 - INVECCHIAMENTO CUTANEO E ACIDO IALURONICO

minore quantità di collagene, elastina e HA, il che sfocia nella formazione di rughe, nella perdita di elasticità e di tono, nell'eccessiva secchezza cutanea.

L'invecchiamento cutaneo è causato da due diverse componenti: intrinseca ed estrinseca. L'invecchiamento cutaneo intrinseco, spesso chiamato anche cronologico o endogeno, è inevitabile e deriva dai cambiamenti fisiologici che avvengono sulla cute con il passare del tempo, mentre il corpo umano invecchia. È regolato principalmente da fattori genetici e ormonali. Il secondo tipo di invecchiamento è quello estrinseco o esogeno. Questo tipo di invecchiamento è influenzato dai fattori ambientali come la radiazione ultravioletta (UV), l'inquinamento atmosferico, il fumo di tabacco, le temperature estreme, l'umidità. La radiazione solare ultravioletta causa un invecchiamento cutaneo prematuro, chiamato foto-invecchiamento: provoca un danno e una degenerazione di epidermide e derma, in grado di creare disordini nella pigmentazione cutanea, eccessiva cheratinizzazione dell'epidermide, rughe profonde, pelle lassa e, nei casi più gravi, lo sviluppo di neoplasie cutanee.

Un importante fattore in grado di accelerare l'invecchiamento cutaneo prematuro è lo stress ossidativo. Esso è responsabile dello sviluppo di numerose patologie età-correlate, come le neuro-degenerazioni, le malattie cardiovascolari, il diabete e le infiammazioni croniche. Lo stress ossidativo è definito come l'interruzione nell'omeostasi tra le specie reattive dell'ossigeno (ROS) – ad esempio il perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ), l'ossigeno singoletto ( $^1O_2$ ), il radicale superossido

### 3 - INVECCHIAMENTO CUTANEO E ACIDO IALURONICO

( $O_2^{\bullet-}$ ), il radicale ossidrilico (OH) – e le proprietà antiossidanti del corpo umano. I ROS sono molecole fortemente reattive in grado di ossidare i componenti cellulari della pelle, causando danno proteico, perossidazione lipidica, danno al DNA e successive mutazioni, oltre che l'attivazione di diverse cascate infiammatorie, contribuendo perciò all'invecchiamento cutaneo, allo sviluppo di neoplasie, alla compromissione della guarigione da lesioni. Tra i fattori che possono accrescere la formazione di ROS nella cute, rientrano la radiazione UV, gli inquinanti dell'aria come ozono e particolato, il fumo di sigaretta, l'alimentazione non adeguata e l'eccessivo consumo di alcol. Una maggiore produzione di ROS comporta l'innalzamento di attività delle MetalloProteinasi della Matrice (MMPs), responsabili del rimodellamento della matrice extracellulare ECM. Principalmente le MMPs cutanee traggono origine da cheratinociti e fibroblasti; possono però essere prodotte anche da cellule del sistema immunitario e da cellule endoteliali. Le MMPs partecipano a numerose attività all'interno della cute, essendo coinvolte nell'angiogenesi, nella guarigione da ferite, nella riparazione tissutale e nel rimodellamento dell'ECM. Un'iper-produzione di MMPs può causare degradazione delle proteine di matrice come collagene ed elastina. Nella cute danneggiata dalla radiazione UV è stata riscontrata una sovra-espressione di alcune MMPs, specialmente MMP1 e MMP12. MMP1 è comunemente chiamata collagenasi 1, ed è la principale responsabile della degradazione del collagene di tipo I e di tipo III. MMP12 è invece detta macrofago-elastasi, ed è in grado di degradare

### 3 - INVECCHIAMENTO CUTANEO E ACIDO IALURONICO

l'elastina e altre proteine dell'ECM come laminina, fibronectina, e collagene di tipo I e IV. L'attività delle MMPs è regolata da specifici Inibitori Tissutali di MetalloProteinasi (TIMPs): si tratta di proteasi capaci di inibire l'attività delle MMPs. Quando le MMPs vengono sovra-esprese, la loro eccessiva attività altera l'equilibrio instaurato con i TIMPs, causando disturbi nel rimodellamento tissutale.

L'invecchiamento cutaneo può influenzare anche la glicazione proteica: si tratta di una reazione non enzimatica che avviene tra zuccheri e proteine, alterandone struttura e funzione. Il risultato di questo è la formazione di AGEs (Advanced Glycation End-products), molecole coinvolte nell'infiammazione e nello stress ossidativo. Gli AGEs interagiscono con l'ECM, danneggiando le proteine strutturali della pelle. Gli AGEs si possono legare a recettori chiamati RAGE (Receptor for Advanced Glycation End-products), coinvolti nei processi di danno tissutale e di progressione di numerose patologie. L'interazione tra AGEs e RAGE attiva il percorso di segnalazione del fattore di trascrizione nucleare NF-κB, portando all'aumento della produzione di ROS e a un conseguente innalzamento dei livelli di stress ossidativo: tutto ciò provoca infiammazione e danno cellulare.

#### **3.2 Acido ialuronico e invecchiamento cutaneo**

Come già enunciato in precedenza, il 50% del contenuto totale di HA del corpo umano è localizzato nel tessuto cutaneo. Questo dato supporta la convinzione che esso sia un componente fondamentale dell'ECM e che perciò sia altrettanto importante nei processi di invecchiamento cutaneo. Nella pelle giovane, il contenuto di HA è

### 3 - INVECCHIAMENTO CUTANEO E ACIDO IALURONICO

ottimale, e permette di mantenere una buona elasticità, consistenza e adeguati livelli di idratazione. Una riduzione fisiologica del contenuto di HA inizia piuttosto presto, solitamente l'età di 25 anni è considerata quale limite soglia, superato il quale avviene una progressiva perdita. Uno studio pubblicato nel 1987 (Longas et al.) ha mostrato che il contenuto medio di HA nella pelle è di 0,3 mg/g tra i 19-47 anni. Questa concentrazione si abbassa al crescere dell'età: si dimezza a 60 anni (0,15 mg/g), per arrivare a 0,07 mg/g a 75 anni. Nella pelle giovane, l'HA è distribuito in modo omogeneo dando origine a un sistema interconnesso con fibre di collagene ed elastina. Durante la senescenza sono state osservate carenze di HA nelle aree inter-cellulari e peri-cellulari del derma, comportando perdita di integrità strutturale. Inoltre, con l'avanzare dell'invecchiamento è stata osservata una riduzione del peso molecolare dell'HA: sebbene in letteratura vi sia una mancanza di dati riguardanti l'evoluzione fisiologica del contenuto propriamente epiteliale, esistono osservazioni sul contenuto articolare di HA che mostrano una progressiva riduzione del peso molecolare associata al progredire dell'invecchiamento (si passa da  $2,0-3,0 \times 10^6$  Da nella cartilagine articolare di bambini di 2,5 anni, a  $0,5 \times 10^6$  Da nella cartilagine di un gruppo di anziani di 86 anni). Sia l'invecchiamento intrinseco che quello estrinseco causano una degradazione significativa dell'HA, con ricadute in termini di invecchiamento cutaneo: i segni di ciò comprendono eccessiva secchezza cutanea, formazione di rughe, perdita di turgore e di elasticità della pelle. Nell'invecchiamento cutaneo cronologico è stata

### 3 - INVECCHIAMENTO CUTANEO E ACIDO IALURONICO

osservata una maggior perdita di HA nell'epidermide piuttosto che nel derma, dove il contenuto non varia in modo apprezzabile. Si è visto che la riduzione del contenuto di HA si accompagna a una minore attività degli enzimi HAS1 e HAS2, così come a una sotto-regolazione dei recettori CD44 e RHAMM. Si pensa che una riduzione della sintesi di HA durante l'invecchiamento possa essere correlata all'incremento della concentrazione di molecole di microRNA non codificante, come ad esempio miR23-3p; è stato infatti osservato che miR23-3p è in grado di legare una regione non tradotta di mRNA (3'UTR – UnTranslated Region) localizzata oltre la sequenza codificante, il che induce una riduzione dell'espressione di HAS2 e, di conseguenza, un'attenuazione nella proliferazione dei fibroblasti e nella produzione di acido ialuronico.

In merito all'invecchiamento indotto dalla radiazione UV, uno studio del 2007 (Averbeck et al.) ha dimostrato che nella pelle esposta a raggi UVB il livello di HA si innalza nell'epidermide, mentre decresce nel derma: ciò per via di una diminuzione dell'attività enzimatica di HAS1 e HAS2 in questo strato cutaneo. Nella matrice extracellulare del derma si è invece osservato, a distanza di 24 h dall'esposizione alla radiazione UV, un significativo aumento di concentrazione di LMW-HA (MW < 100 kDa) rispetto al gruppo di controllo costituito da soggetti i quali non sono stati esposti a radiazione. Inoltre, è stato osservato che nella pelle esposta ai raggi UV, in cui si sia verificato un danno alla membrana basale, il contenuto di HA nell'epidermide è ridotto sia rispetto a quello rilevato nella pelle su cui sia stata applicata

### 3 - INVECCHIAMENTO CUTANEO E ACIDO IALURONICO

una protezione solare, sia rispetto a quello misurato su pelle giovane e con membrana basale intatta. È stato perciò ipotizzato che la membrana basale giochi un ruolo importante nel mantenere i corretti livelli di HA nell'epidermide.

A seguito dell'esposizione alla radiazione UV, oltre a una riduzione dell'attività di HAS1 e HAS2, è stata anche osservata una modifica nell'attività delle ialuronidasi: sono stati infatti rilevati incrementi di attività di HYAL1, HYAL2, HYAL3 e CEMIP, con ovvie ricadute in termini di catabolismo dell'HA.

Per tutto quanto sopra esposto, si può comprendere che la secchezza cutanea indotta dall'esposizione ai raggi UV derivi sia da una riduzione del contenuto di HA, sia da un aumento della concentrazione di LMW-HA (che rispetto all'HMW-HA è in grado di incorporare meno acqua).

## 4. ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

La presenza naturale di acido ialuronico nella cute umana fa sì che questa molecola sia evidentemente biocompatibile; inoltre, è stato ampiamente dimostrato come essa sia molto abbondante nei tessuti cutanei, dove svolge una grande varietà di funzioni biologiche. Per queste motivazioni, diverse applicazioni dermatologiche e cosmetiche sono state sviluppate con l'obiettivo di idratare, riparare, ringiovanire la cute, oppure per prendersi cura dei capelli, o ancora per trattare squilibri e disordini cutanei.

### 4.1 Le molecole alle quali si fa riferimento quando si parla di acido ialuronico

All'acido ialuronico sono state assegnate differenti terminologie. La forma base in soluzione è chiamata ialuronato, quella acida invece acido ialuronico; sodio ialuronato, calcio ialuronato e magnesio ialuronato indicano i sali dell'HA. I termini MMW-HA (Medium Molecular Weight) e LMW-HA (Low Molecular Weight) si riferiscono ai derivati (a inferiore peso molecolare) ottenuti dalla rottura chimica o enzimatica della catena polimerica di HA nativo (HMW-HA): possono riferirsi sia all'HA idrolizzato che al sodio ialuronato idrolizzato. Secondo una ricerca condotta nel 2024, l'ingrediente più diffuso tra i prodotti cosmetici è senza dubbio il sodio ialuronato (conformemente alla nomenclatura INCI – International Nomenclature for Cosmetic Ingredients).

## 4 - ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

All'interno dei prodotti cosmetici sono commercializzati diversi tipi di HA. Secondo i dati diffusi nel 2023 dalla FDA statunitense (Food and Drug Administration), il sodio ialuronato ha la più alta frequenza di utilizzo, essendo incorporato in 4.713 formulazioni: si tratta della forma nativa ad alto peso molecolare (HMW-HA), non sottoposta a modificazioni successive all'estrazione dalla materia prima. Quella nativa si incontra anche nella forma acida, "acido ialuronico", presente in 663 formulazioni. Seguono, per numero di utilizzazioni, la forma idrolizzata (HA idrolizzato - 476 formulazioni) e quella derivatizzata "sodio ialuronato acetilato" (455 formulazioni). Gli altri ingredienti (per un totale di 204 formulazioni) consistono in altri derivati ottenuti dal crosslinking di HA con sé stesso o con altri polimeri, oppure dalla coniugazione con diverse funzionalità chimiche. Queste modifiche puntano a migliorare le performance dell'HA, mantenendo comunque intatte le sue proprietà originali e la caratteristica fondamentale di biocompatibilità.

### 4.2 Tecnologie produttive dell'acido ialuronico in cosmetica

L'HMW-HA rappresenta la prima generazione di acido ialuronico come ingrediente cosmetico. A livello industriale può essere ottenuto da tessuti animali (principalmente cresta di gallo) e da alcuni batteri attraverso il processo di fermentazione, e mostra la stessa identica struttura indipendentemente dall'origine. Per molti anni è esistita solo la possibilità di estrazione dai tessuti animali. Nonostante le migliorie continuamente apportate a questo tipo di

#### 4 - ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

processo, questa metodologia è stata sempre ostacolata dalla presenza di alcune limitazioni tecniche, che portavano alla produzione di HMW-HA ( $MW > 10^6$  Da) con una bassa resa. Ciò dipendeva sia dalla scarsa concentrazione di acido ialuronico dei tessuti di partenza, sia dalla degradazione condotta dagli enzimi HYAL endogeni e dalle difficili condizioni di estrazione. Inoltre, alcuni svantaggi intrinseci dovuti all'estrazione da organismi animali includono la possibile presenza di contaminanti biologici (proteine, acidi nucleici, virus) e gli alti costi di purificazione. La fermentazione batterica è stata perciò progressivamente usata nella produzione di HMW-HA sia per motivi etici e di sicurezza, sia per considerazioni di scalabilità del processo. L'HA derivato da microorganismi è biocompatibile con il corpo umano poiché è stato osservato che la struttura dell'HA risulta altamente conservata attraverso le diverse specie animali. I ceppi A e C del batterio *Streptococcus* (entro cui l'HA è stato individuato nella capsula batterica con il ruolo di fattore di virulenza), sono stati i primi ad essere impiegati per la produzione industriale di HA; oggi, invece, in commercio esistono moltissimi prodotti che contengono HA ottenuto da ceppi di *Streptococcus equi* (sottospecie *zooepidemicus*). Poiché in natura diverse specie di *Streptococcus* sono patogene per l'uomo, è però necessario che la produzione di HA segua un accurato e costoso processo di purificazione; per questo motivo, altre specie microbiche sono state studiate (e sono tuttora in corso di studio) per un loro possibile sfruttamento nella sintesi di acido

#### 4 - ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

ialuronico. Un microorganismo ideale per la biosintesi di HA dovrebbe essere GRAS (Generally Regarded As Safe), dovrebbe non produrre alcun tipo di tossina, e dovrebbe essere in grado di sintetizzare HA con peso molecolare  $MW > 10^6$  Da, poiché il valore di mercato dell'HA riflette la sua purezza e il suo peso molecolare (che a sua volta incide sulle proprietà reologiche e biologiche). Oggi esistono alcuni microorganismi ricombinanti, considerati GRAS, capaci di sintetizzare HA privo di tossine, come ad esempio *Lactococcus lactis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Corynebacterium glutamicum*. Tuttavia non si è ancora riusciti ad ottenere un batterio eterologo in grado di garantire un tasso di produzione di HA pari a quello naturale, ma solo inferiore. Per questo motivo si stanno conducendo ricerche per trovare un bioreattore ideale per garantire alti tassi di produzione di HA, inoltre si sta esplorando l'impiego di organismi eucariotici in alternativa ai batteri, come i lieviti (ad esempio *Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia pastoris*) e le colture cellulari ottenute da organismi vegetali (ad esempio tabacco trasformato geneticamente).

Poiché l'HA mostra effetti biologici diversi in funzione del suo peso molecolare, è emersa la necessità di ottenere suoi composti a basso peso molecolare. L'HA idrolizzato costituisce perciò la seconda generazione di ingrediente cosmetico a base di acido ialuronico. La depolimerizzazione può essere ottenuta attraverso l'impiego di enzimi catalitici (come le HYALs o altri enzimi di origine batterica) o mediante metodi fisico-chimici (idrolisi acida o basica, degradazione

#### 4 - ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

termica o ultrasonica, attacchi da parte di ossidanti ed esposizione a radiazioni di diverso tipo).

La terza generazione di ingrediente è invece rappresentata dai derivati dell'HA: come già accennato, si tratta di molecole che mantengono le proprietà di base dell'HA (biocompatibilità, viscosità, mucoadesione, biodegradabilità, non immunogenicità), aggiungendo però funzionalità che ne possono far estendere il campo di applicazione o ne possono aumentare l'emivita. Le modifiche chimiche introdotte sull'acido ialuronico coinvolgono principalmente due posizioni funzionali del biopolimero: i gruppi ossidrilico (la funzione alcolica primaria della N-acetil-D-glucosamina) e carbossilico (dell'acido D-glucuronico). Inoltre, modifiche di sintesi chimica possono essere apportate in seguito alla de-acetilazione del gruppo N-acetilico, così da recuperare le funzionalità amminiche. Tutti questi gruppi funzionali dell'HA possono essere modificati attraverso l'impiego di due tecniche, entrambe basate sulla stessa reazione chimica, ma che conducono a diversi risultati: la coniugazione e il crosslinking. La coniugazione consiste nell'aggiunta di una molecola monofunzionale ad una catena di HA attraverso la formazione di un singolo legame covalente; il crosslinking (o reticolazione) utilizza invece composti polifunzionali per unire tra loro diverse catene di HA (nativo o coniugato) attraverso la formazione di due o più legami covalenti. La coniugazione e il crosslinking sono solitamente usati per diversi motivi. La coniugazione consente di poter in

## 4 - ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

seguito eseguire il crosslinking con un'ampia varietà di molecole; il crosslinking è invece solitamente impiegato per migliorare le proprietà meccaniche, reologiche e di rigonfiamento dell'HA, oltre che ridurre il suo tasso di degradazione, così da ottenere derivati in grado di permanere più a lungo nel sito di applicazione.

### 4.3 L'impiego di acido ialuronico in ambito cosmetico

Nelle formulazioni commercializzate per la cura della pelle ("skin care") l'HA può trovare impiego principalmente come componente idratante, per via della sua natura altamente idrofilica. L'uso di prodotti cosmetici come creme, lozioni o sieri contenenti HA aiuta l'idratazione della cute e ne migliora l'elasticità, riducendo così la profondità delle rughe. Si presume che, quando applicate sulla superficie cutanea, le soluzioni contenenti HA formino uno strato occlusivo, in grado di ritenere umidità e idratare così la cute, facendo sì che possa verificarsi il riempimento delle rughe. Si pensa anche che l'HA stimoli la migrazione delle cellule epidermiche. Inoltre, le proprietà occlusive garantite dalla presenza di HA permettono agli ingredienti funzionali incorporati nei cosmetici di permanere più tempo negli strati cutanei, così da facilitare la loro penetrazione nell'epidermide. Esistono studi che hanno dimostrato l'efficacia di alcuni prodotti cosmetici contenenti HA nella protezione della cute dalla radiazione UV; al contempo, la presenza di acido ialuronico nei prodotti solari aiuta a mantenere una cute tonica, proteggendola dai danni indotti dagli UV grazie alle potenziali proprietà antiossidanti dell'HA.

#### 4 - ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

Nelle formulazioni cosmetiche, l'acido ialuronico riveste anche il ruolo di modificatore reologico e/o condizionante cutaneo. L'HA trova ampio impiego nei prodotti cosmetici mirati a contrastare l'invecchiamento cutaneo. L'acido ialuronico a basso peso molecolare (LMW-HA) possiede l'abilità di migliorare i livelli di idratazione cutanea e di stimolarne la rigenerazione; quello ad alto peso molecolare (HMW-HA) forma un film viscoelastico quando applicato sulla cute, così da ritenere umidità. La principale azione del HMW-HA è quella filmogena, così da ridurre l'evaporazione dell'acqua presente nella cute e garantire un effetto occlusivo, pur mantenendo inalterata la permeabilità all'aria necessaria affinché non venga ostacolata la respirazione cutanea. Inoltre, le proprietà igroscopiche di HMW-HA, MMW-HA e LMW-HA giustificano la capacità dell'acido ialuronico di mantenere la cute idratata.

L'acido ialuronico riveste particolare importanza anche nell'impiego come sistema di trasporto per ingredienti attivi. Esistono in commercio alcune formulazioni che incorporano attivi in diverse concentrazioni. Queste formulazioni sono dedicate al trattamento topico di alcune condizioni infiammatorie della pelle come la cheratosi attinica: è stato dimostrato che la presenza di HA migliora la penetrazione dell'ingrediente attivo attraverso lo strato corneo (che funge da barriera fisiologica all'ingresso di sostanze estranee negli strati cutanei più profondi), e aumenta anche il tempo di permanenza dell'ingrediente attivo nell'epidermide. Le preparazioni

#### 4 - ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

ad uso topico contenenti HA sono impiegate anche per sfruttare le sue capacità lenitive, riducendo l'irritazione cutanea.

All'interno delle formulazioni cosmetiche l'acido ialuronico è impiegato in concentrazioni che variano solitamente dallo 0,2% all'1%. La massima concentrazione di ialuronato di sodio è pari al 2%, valore riscontrato in una lozione per il corpo. Applicando sulla cute 1 mg/cm<sup>2</sup> di prodotto cosmetico, si è visto ottenere un apporto cutaneo di acido ialuronico pari a 0,02 mg/cm<sup>2</sup>.

L'interesse nell'uso di acido ialuronico in ambito cosmetico è nato quando si è scoperto che il naturale contenuto cutaneo di HA decresce con l'avanzare dell'età: reintroducendolo attraverso l'uso di prodotti per la skin care aiuta a mantenere la cute idratata, attenua la progressione delle rughe e conferisce lucentezza alla cute. L'HA inoltre possiede molte qualità che lo rendono superiore a numerose altre sostanze d'impiego nella rigenerazione cutanea, con pronunciati effetti anti-invecchiamento e idratanti.

L'attività biologica e la profondità di penetrazione cutanea delle applicazioni topiche a base di HA dipendono dal suo peso molecolare. Per esercitare l'azione biologica sulla cute, è necessario che gli ingredienti riescano a raggiungere le cellule vitali. Nonostante l'HA sia una molecola molto idrofila, le informazioni ottenute dagli studi strutturali indicano che in soluzione si stabilizzi la sua struttura secondaria grazie alla formazione di legami idrogeno, con una serie di gruppi C-H (con carattere idrofobico) disposti tra loro adiacenti che conferiscono alla molecola proprietà

#### 4 - ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

anfifiliche, grazie alle quali viene facilitata la penetrazione dello strato corneo. Diverse metodologie e diversi pesi molecolari di HA sono stati impiegati per descrivere i meccanismi di penetrazione, la quantità di HA che può raggiungere i compartimenti cutanei, e per capire se l'HA sia in grado di raggiungere le cellule del derma. Gli studi che sono stati eseguiti concordano sul fatto che la permeabilità della cute umana all'acido ialuronico dipenda dalle dimensioni del polimero, e che le molecole con  $MW < 4 \times 10^5$  Da possano diffondere almeno entro lo strato corneo. La capacità del polimero di raggiungere epidermide e derma è stata verificata in diversi studi, ed è correlata al tipo di formulazione, alla concentrazione di HA, al numero di applicazioni, al modello di cute impiegato nello studio e al metodo di rilevazione adottato. I meccanismi con i quali l'HA penetra la cute non sono ancora stati compresi in modo del tutto esauriente, e sono stati studiati principalmente su modelli animali. Uno studio del 1999 (Brown et al.) ha ipotizzato che la penetrazione topica di HA possa essere mediata sia dalla diffusione extracellulare sia da trasporti attivi. Studi successivi hanno dimostrato che l'HA (190-200 kDa) possiede alta affinità per la cheratina e hanno suggerito che esso possa attraversare lo strato corneo e l'epidermide attraverso i corneociti. È stato inoltre osservato che l'HA è in grado di indurre una modifica conformazionale nella cheratina, promuovendo la sua conversione strutturale dalla forma di  $\alpha$ -elica a quella di foglietti  $\beta$ , aumentando in tal modo la permeabilità dello strato corneo. Anche i follicoli piliferi possono costituire un punto di

#### 4 - ACIDO IALURONICO IN COSMETICA

accesso preferenziale dell'HA nei trattamenti cutanei, soprattutto a livello del cuoio capelluto, per via della loro struttura che si approfonda nel derma.

In conclusione, l'acido ialuronico rappresenta uno degli ingredienti più importanti e utilizzati in cosmetica grazie alla sua elevata biocompatibilità, capacità idratante e versatilità applicativa. Le diverse forme e pesi molecolari consentono di ottenere effetti differenti, che spaziano dall'idratazione superficiale all'azione rigenerante e anti-age. Inoltre, lo sviluppo di derivati e nuove tecniche produttive ha ampliato le possibilità di impiego dell'HA, migliorandone stabilità ed efficacia. Sebbene alcuni meccanismi di penetrazione cutanea richiedano ulteriori approfondimenti, l'acido ialuronico continua a rappresentare una risorsa fondamentale nella formulazione di prodotti cosmetici e dermatologici innovativi.

## 5. ACIDO IALURONICO IN MEDICINA ESTETICA

Con lo scopo di rallentare gli effetti dell'invecchiamento cutaneo, accanto ai prodotti cosmetici ad applicazione topica, si è fatta strada da molti decenni la possibilità di intervenire sulla cute attraverso l'impiego di iniezioni riempitive (filler). Negli anni si è assistito ad un notevole sviluppo di questi sistemi, e oggi il mercato è in grado di rendere disponibili numerose tipologie di prodotti riempitivi dei tessuti molli, classificati come dispositivi medici secondo il Regolamento UE 2017/745 (MDR – Medical Device Regulation). Le procedure mini-invasive per la correzione dei difetti correlati all'invecchiamento del viso sono diventate oggi la norma, non solo per i tessuti molli superficiali (come cute e sottocute) ma anche per gli strati anatomicamente più profondi del viso. L'uso su larga scala dei filler facciali è stato attribuito all'introduzione in commercio dei filler a base di HA, che secondo i dati diffusi dall'ASPS<sup>1</sup>, nel solo 2024 hanno costituito circa il 75% di tutti i filler impiegati allo scopo di ringiovanire e volumizzare la cute (tipicamente guance e labbra). I filler a base di HA hanno riportato un basso tasso di complicazioni, garantiscono buona durabilità, sono relativamente poco costosi, e possono essere corretti mediante lisi con l'impiego di iniezioni di ialuronidasi.

---

<sup>1</sup> American Society of Plastic Surgeons - 2024 Procedural Statistics Release. Consultato online il 15/04/2026: <https://www.plasticsurgery.org/documents/news/statistics/2024/plastic-surgery-statistics-report-2024.pdf>

## 5 - ACIDO IALURONICO IN MEDICINA ESTETICA

Solitamente sono impiegati nella forma di idrogel a base di HA reticolato, sospeso in soluzione fisiologica o in tampone fosfato. Il crosslinker più comunemente utilizzato è l'1,4-butandiolo diglicidil etere (BDDE), ma sono stati introdotti in commercio anche altri reticolanti quali l'1,2,7,8-diepossioctano (DEO), il divinil sulfone (DVS), l'esametildiammina (HMDA) e il polietilenglicole diglicidil etere (PEGDE). Le caratteristiche reologiche e biofisiche sono alla base della scelta del giusto filler per ogni uso specifico: di solito un filler usato per il recupero di volume facciale e iniettato in profondità ha diverse caratteristiche rispetto a quello impiegato per trattare le linee sottili della cute. Infatti i filler impiegati per le iniezioni profonde vengono definiti "duri", quelli per le iniezioni superficiali "morbidi". I filler morbidi hanno una minore viscosità ed elasticità, così da poter diffondere nei tessuti molli (ideali per trattare rughe e linee sottili del viso). All'opposto, i filler duri sono più viscosi ed elastici, così da fornire sollevamento e supporto, con una minima possibilità che il prodotto si sposti dalla zona di applicazione (ideali per i trattamenti destinati a ristabilire volume).

Esistono due grandi famiglie di filler a base di HA: "monofasica" e "bifasica" (chiamate anche "coesiva" e "granulare"). Come si evince già dal nome, un filler monofasico consiste in una miscela omogenea di catene di HA crosslinkato (ad alto o basso peso molecolare), mentre un filler bifasico contiene particelle di HA reticolato disperse in un veicolo (HA non reticolato o molto poco reticolato) che funge da matrice fluida così da permettere al gel di essere estruso e iniettato. Queste due

diverse tipologie di filler possono essere ottenute sfruttando due diversi processi produttivi, ottenendo un prodotto finale con differenti caratteristiche fisiche e reologiche: solitamente, i filler monofasici sono dotati di un'elasticità inferiore e di una viscosità superiore rispetto a quelli bifasici.

### 5.1 Tecnologia produttiva dei filler iniettabili a base di acido ialuronico

Come già esposto nei precedenti capitoli, la modifica chimica delle molecole native di HA è utile per rallentare la naturale e rapida degradazione dell'acido ialuronico che fisiologicamente avviene all'interno del corpo umano: un riassorbimento troppo veloce dei filler renderebbe altrimenti insoddisfacente il riempimento artificiale dei tessuti molli ottenuto con il loro impiego. L'HA reticolato, essendo meno suscettibile all'idrolisi chimica o enzimatica, mostra una persistenza *in vivo* molto prolungata (da 45 giorni a 6-8 mesi), perché trasforma la soluzione di HA in un gel viscoelastico. Ciò crea un impedimento sterico che riduce la penetrazione e la mobilità delle ialuronidasi all'interno del gel, aumentando il tempo di permanenza del filler nel sito d'impianto. Tanto più è alto il grado di crosslinking, tanto più "duro" sarà il filler ottenuto. Il reticolante più frequentemente usato è il BDDE, in grado di fornire legami covalenti irreversibili tra le catene di HA: i gruppi epossidici presenti ai due lati terminali della molecola reagiscono con i gruppi nucleofili dell'HA, dando origine a un ponte etero di BDPE (1,4-butandiolo di-(propan-2,3-diolil) etere).

## 5 - ACIDO IALURONICO IN MEDICINA ESTETICA

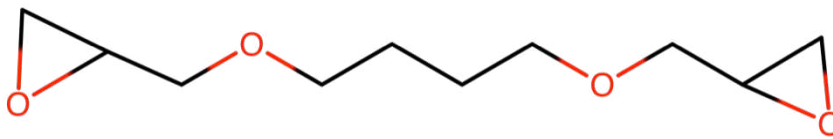


Figura 3 - Struttura chimica del BDDE, il reticolante più usato nei filler a base di HA

Durante il processo di crosslinking possono però verificarsi altre due circostanze: innanzitutto, alcune molecole di BDDE possono reagire solo con l'acqua o con ioni idrossido presenti in soluzione, dando luogo alla formazione di BDPE libero (crosslinker disattivato); inoltre, alcune molecole di BDDE possono reagire con l'HA solo da un lato, e con l'acqua dall'altro, dando così origine a BDPE mono-linkato. Il BDPE libero e quello mono-linkato non contribuiscono a stabilizzare il filler, ma accrescono solo la quantità di BDDE da usare inizialmente, senza apportare effetti funzionali; perciò le tecniche di reticolazione utilizzate dai produttori di filler cercano di ottimizzare l'efficienza del crosslinking, così da ridurre la percentuale di BDPE libero o mono-linkato. Oltre al crosslinking, le proprietà fisiche e meccaniche di un idrogel dipendono anche dal grado di modificazione (degree of modification). Il grado di modificazione è il rapporto stechiometrico tra la somma dei residui di BDPE (sia mono-linkato che di-linkato) e il numero di unità disaccaridiche dell'HA: fornisce un'idea della quantità di BDPE legato rispetto alla quantità totale di HA. Un basso grado di modificazione indica che il filler contiene HA che somiglia molto alla molecola nativa, mentre un alto grado di modificazione si riferisce a un filler in cui il polimero è stato ampiamente modificato. È importante ricordare a questo punto che le molecole di HA nativo non sono

immunogeniche; tuttavia, tanto maggiore sono le modifiche che le vengono apportate, tanto più la molecola che si ottiene differisce dall'HA nativo. Perciò occorre non eccedere nel grado di modificazione, che può essere anche interpretato come una misura della tendenza del filler ad essere riconosciuto come corpo estraneo e indurre una risposta immunitaria post-iniezione.

Un altro parametro che occorre considerare nei processi produttivi dei filler è il rapporto di reticolazione (crosslinking ratio), che mette in relazione il BDPE cross-linkato in confronto al numero totale di molecole di BDPE legate all'HA. Un filler con predominanza di molecole di BDDE in sospensione ha un rapporto di reticolazione inferiore (ed è più debole) rispetto a un filler con predominanza di BDDE di-linkato. Il grado di crosslinking (degree of crosslinking), che è il rapporto stechiometrico tra i residui di BDPE di-linkati e il numero di unità disaccaridiche dell'HA, fornisce invece un'idea della quantità di BDPE cross-linkato rispetto alla quantità totale di HA. Valori elevati del grado di crosslinking o del rapporto di reticolazione significano che un filler è più forte perché maggiormente reticolato, e avrà perciò un rigonfiamento inferiore rispetto a un gel con valori inferiori degli stessi parametri. Tanto più alto sarà il grado di crosslinking, tanto più il filler sarà "duro", tanto più durevole sarà la sua persistenza in seguito all'iniezione, e tanto meno sarà idrofilo.

Terminata la fase di reticolazione, il risultato che si ottiene è una massa compatta di gel che richiede trattamenti successivi: la massa deve essere ridimensionata in porzioni reticolate più piccole, così da

consentire al gel di raggiungere una viscosità che gli consenta di poter essere iniettato. Esistono due diverse modalità per raggiungere questo obiettivo. La prima consiste nel far passare il gel attraverso una serie di setacci, così da creare particelle di gel con una dimensione media predefinita. Tanto più è alta la dimensione media, tanto più il filler risultante sarà “duro”. Esiste comunque un limite massimo, oltre il quale le particelle di gel non possono essere estruse attraverso l’ago. Per facilitare l’iniettabilità, le particelle della dimensione desiderata vengono disperse in una soluzione di HA che funziona da lubrificante. I filler prodotti attraverso questo metodo vengono chiamati bifasici o granulari.

La seconda metodologia è quella dell’omogeneizzazione. Si ottiene così un gel di consistenza liscia e con una superficie più regolare rispetto al metodo precedente. Le particelle di gel ottenute con il metodo dell’omogeneizzazione presentano un’ampia varietà di dimensioni particellari. I filler prodotti con questa tecnica vengono comunemente chiamati monofasici, lisci, omogenei o coesivi.

Occorre poi ricordare che tutti i filler, essendo iniettabili, per essere immessi in commercio devono garantire i requisiti di sterilità richiesti dalle normative, pertanto è d’obbligo per i produttori progettare e condurre adeguati processi di sterilizzazione.

### **5.2 Proprietà chimico-fisiche dei filler iniettabili a base di acido ialuronico**

Nella produzione di un filler a base di HA, occorre valutare e tenere in considerazione alcune proprietà chimico-fisiche del prodotto finito.

## 5 - ACIDO IALURONICO IN MEDICINA ESTETICA

Innanzitutto la concentrazione di acido ialuronico: tutti i produttori dichiarano questo valore (espresso in mg/mL), che si riferisce al contenuto totale di HA presente nella formulazione, senza distinguere tra HA reticolato insolubile e porzione non reticolata solubile. La frazione solubile è solitamente aggiunta per ottimizzare la viscosità e migliorare la scorrevolezza del gel durante l'estrusione attraverso un ago in fase di iniezione, oppure può derivare da piccoli frammenti di HA generati durante le fasi produttive di reticolazione o sterilizzazione. Questa frazione *in vivo* è velocemente metabolizzata, ed è convinzione comune che non contribuisca a influenzare le caratteristiche e le performance del filler (es. spalmabilità, capacità di sollevamento, durabilità). La frazione solubile del biopolimero può differire in modo significativo a seconda dei diversi filler, e la concentrazione di HA dichiarata nei filler commerciali può non essere direttamente correlata al comportamento vero e proprio del filler. Nella pratica clinica, i medici non sono informati di quanta frazione solubile sia presente nel filler, e per questo motivo la concentrazione totale di HA può solo essere un valore di riferimento piuttosto che un parametro assoluto su cui basare la scelta del prodotto.

In secondo luogo occorre tenere in considerazione il peso molecolare dell'acido ialuronico presente nel filler: al crescere del MW, si assiste al rafforzamento della rete tridimensionale del polimero, che migliora viscosità e viscoelasticità. Nella produzione di filler per i tessuti molli solitamente viene impiegato HA con MW compreso tra i 500 kDa e i 6.000 kDa. Anche se per descrivere i filler di HA si usa il MW, occorre

tener presente che un filler è tipicamente costituito da molecole di HA reticolato: perciò il MW di un gel di HA è tendenzialmente maggiore rispetto a quanto riportato. Ne deriva che piccole modifiche nel MW portano ad avere effetti trascurabili sulle proprietà finali del gel, che è maggiormente caratterizzato dal numero di cross-link e dalla percentuale di modificazioni: va però considerato che i gel a base di HA con maggiori dimensioni possiedono caratteristiche più adatte all'impiego in filler bifasici. Inoltre, il peso molecolare non sembra impattare sulla risposta infiammatoria/immunitaria ai filler tanto quanto il grado di modificazione. Un altro parametro cui prestare attenzione è la poli-dispersione, intesa come l'eterogeneità dei pesi molecolari delle molecole presenti nel prodotto. I filler a base di HA usati in medicina estetica hanno preferibilmente una bassa poli-dispersione, se non addirittura presentare caratteristiche di mono-dispersione. I principali prodotti reperibili sul mercato presentano un indice di poli-dispersione tra loro simile.

Infine, un parametro che occorre tenere in considerazione è il fattore di rigonfiamento. Come già descritto nel primo capitolo, in soluzione l'acqua forma legami idrogeno con l'acido ialuronico (tra i gruppi acetamidico e carbossilico), e ciò garantisce un'ottima capacità del biopolimero di ritenere acqua. Il fattore di rigonfiamento si determina aggiungendo soluzione isotonica (0,9% NaCl) a un filler, mentre nel frattempo si mescola il tutto. Dopo centrifugazione e allontanamento del surnatante, si effettua una misurazione volumetrica del gel così ottenuto. Il fattore di rigonfiamento all'equilibrio si ottiene dividendo il

volume di gel idratato ( $V$ ) per il volume di filler iniziale ( $V_0$ ). Poiché le proprietà di rigonfiamento derivano dalla porzione di HA insolubile nell'idrogel, si può usare il contenuto di HA insolubile di ogni formulazione (mg) per calcolare la capacità di idratazione, rapportando questa quantità al volume  $V$ . Tanto più alto è il fattore di rigonfiamento, tanto più il gel è lontano dall'equilibrio: un filler a base di HA vicino all'equilibrio ha già praticamente raggiunto la sua capacità di idratazione, e avrà un basso fattore di idratazione. Viceversa, un filler lontano dall'equilibrio avrà un alto fattore di rigonfiamento e un'alta capacità di idratazione. Tutti i filler a base di HA reticolato incorporano il solvente che viene loro aggiunto e rigonfiano, ma possono farlo soltanto fino a un livello che è definito dalla forza della rete polimerica e dal grado di crosslinking. Quest'ultimo parametro determina la capacità delle catene polimeriche di restare tra loro unite, limitandone l'allontanamento e riducendo così la penetrazione e l'aggiunta di molecole di acqua. Il fatto che dopo l'iniezione nei tessuti molli, il gel incorpori molecole di acqua e rigonfi, è una circostanza voluta solo entro certi limiti: infatti, se il rigonfiamento è eccessivo può causare effetti indesiderati come l'edema locale, che può essere solo visibile o anche palpabile.

### **5.3 Filler iniettabili a base di acido ialuronico: fasi cliniche di intervento**

In letteratura sono state individuate quattro fasi cliniche che contraddistinguono le iniezioni di filler a base di HA: l'iniezione, l'integrazione tissutale, il recupero volumetrico e l'idratazione. Le

caratteristiche dei diversi filler possono incidere in ciascuna di queste fasi, modificando il comportamento del filler durante l'iniezione, l'integrazione iniziale, e la permanenza finale nel tessuto che è sede di iniezione.

La fase di iniezione consiste nel passaggio dell'idrogel all'interno di un ago e nella sua immediata integrazione entro i tessuti molli. I produttori di filler nella maggior parte dei casi forniscono aghi di piccolo calibro (gauge pari a 30G o 27G), che può essere maggiore in qualche limitato caso di filler volumizzante (25G o 23G). La viscosità del filler deve essere adeguata per consentire l'estrusione attraverso l'ago e per mantenere una buona capacità di fornire recupero volumetrico al tessuto; per raggiungere questi obiettivi deve avere sufficiente elasticità, pur garantendo una bassa viscosità per riuscire a scorrere attraverso aghi molto sottili. Tanto più è bassa la viscosità, tanto più piccola sarà la pressione che il medico dovrà applicare alla siringa durante l'iniezione. Il parametro fisico che entra in gioco in questa fase è lo snervamento: si tratta dell'entità dello sforzo di taglio che determina la rottura della struttura chimico-fisica del filler e la perdita di viscoelasticità. Un basso snervamento aumenta però il rischio per il filler di essere sottoposto a deformazioni di taglio eccessive, che possono potenzialmente alterarne la struttura durante l'iniezione attraverso aghi molto sottili.

La fase di integrazione tissutale consiste nell'ingresso e nella diffusione del filler entro i tessuti molli in seguito all'iniezione. Questo passaggio ha un ruolo importante nella correzione finale dei difetti e nella

## 5 - ACIDO IALURONICO IN MEDICINA ESTETICA

distribuzione omogenea del filler: un'integrazione omogenea riduce infatti il rischio di formazione di noduli dovuti a eccessivo accumulo di materiale. Un parametro fondamentale in questa fase è la viscosità: nelle iniezioni superficiali, in cui si cerca di correggere piccole linee o imperfezioni, occorre usare gel a bassa viscosità, in grado di distribuirsi e diffondere maggiormente nel tessuto; viceversa, nel caso di iniezioni più profonde che mirano a ristabilire volume e sollevare la cute, occorre fare uso di filler più viscosi.

La fase di recupero volumetrico riguarda l'azione principale dei filler di HA, in particolare quelli volumizzanti, che è il sollevamento dei tessuti molli per raggiungere adeguati livelli di volume. Le caratteristiche reologiche che riguardano questa azione sono perciò quelle di maggior importanza per la scelta dei filler. La capacità di sollevamento (lifting) è l'abilità del filler di sollevare i tessuti e resistere alla deformazione dopo che è stata eseguita l'iniezione. Il parametro più appropriato per descrivere queste caratteristiche è il modulo elastico ( $G'$ ), inteso come la misura dell'energia accumulata dal filler a seguito dell'applicazione di uno sforzo di taglio (impresso ad esempio dalla forza di gravità o dall'azione dei muscoli facciali); energia che potrà poi essere usata per recuperare la forma iniziale, nel momento in cui l'azione tagliante viene meno. I filler con modulo  $G'$  più elevato sono adatti ad essere iniettati più in profondità (nei compartimenti adiposi più profondi o in un piano pre-periosteale), così da non renderli visibili o palpabili, per via del loro marcato effetto volumizzante e di sollevamento. I filler con valori intermedi del modulo  $G'$  possono

## 5 - ACIDO IALURONICO IN MEDICINA ESTETICA

essere iniettati nei compartimenti adiposi più superficiali, nelle giunzioni derma-sottocute, o nel derma più profondo. Da ultimi, i filler con un basso modulo  $G'$  devono essere iniettati nel derma.

Infine, l'ultima fase consiste nell'idratazione: dopo l'iniezione, le molecole di HA del filler attirano acqua, e questa azione è responsabile del recupero di un alto livello di idratazione tissutale, contribuendo anche a migliorare il recupero volumetrico. Solitamente, tanto più è alta la concentrazione di HA insolubile nel filler, tanto maggiore è il fattore di rigonfiamento: ciò fa sì che vi sia un maggior recupero volumetrico dovuto all'accumulo di acqua, e una maggiore idratazione tissutale. Sembra inoltre che il fattore di rigonfiamento possa essere correlato al modulo elastico  $G'$ : a un elevato valore di  $G'$  corrisponde un basso fattore di rigonfiamento, e viceversa. Questo perché un'elevata elasticità impedisce all'acqua di penetrare nel reticolo di acido ialuronico.

## 6. EVIDENZE SCIENTIFICHE DI SICUREZZA

Poiché negli ultimi anni si è assistito a un grande incremento nell'uso di prodotti a base di acido ialuronico, in questa sezione saranno esaminate alcune evidenze a supporto della sicurezza d'impiego di questi prodotti, sia in ambito cosmetico che in medicina estetica. Verranno presi in considerazione gli effetti collaterali che possono verificarsi con l'uso di HA, insieme alle soluzioni che esistono per porvi rimedio.

### 6.1 Ambito cosmetico

Per via della sua presenza naturale e ubiquitaria nel corpo umano, l'HA si è dimostrato essere sicuro e biocompatibile. Infatti, le svariate applicazioni di questo polimero nel settore cosmetico hanno fatto sì che nel tempo sia stata prodotta una vasta letteratura a supporto del suo profilo di sicurezza. In Europa lo standard di riferimento per l'impiego di HA nel settore della cosmetica è costituito dal regolamento (CE) n. 1223/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio del 30 novembre 2009 sui prodotti cosmetici (entrato in vigore nel 2013). In aggiunta a ciò, esistono anche linee guida ISO per le pratiche di buona produzione e di controllo della qualità. Nel 2009 è stato pubblicato il *"Final Report of the Safety Assessment of Hyaluronic Acid, Potassium Hyaluronate, and Sodium Hyaluronate"* da parte del gruppo di esperti del CIR (Cosmetic Ingredient Review): sulla base della letteratura esistente e di dati non pubblicati forniti dalle industrie, gli esperti hanno concluso che l'HA è

sicuro nell'uso cosmetico, secondo gli impieghi e le concentrazioni considerate all'atto della valutazione.

### **6.2 Medicina estetica: effetti collaterali e loro risoluzione**

Diversa è la situazione dell'impiego di acido ialuronico in medicina estetica, dove le complicazioni sul suo utilizzo possono spaziare dal risultato estetico non conforme alle aspettative (condizione che non incide sulla pericolosità di impiego, si tratta soltanto di rigonfiamenti eccessivi per il paziente o posizionamenti del filler in aree non gradite) a situazioni più serie come formazione di noduli, reazioni di ipersensibilità, o gravi occlusioni vascolari.

Nel primo caso, si assiste al non corretto posizionamento del filler a base di HA, che risulta in asimmetrie, eccessivo gonfiore, o nel cosiddetto "effetto Tyndall". Quest'ultimo è un inestetismo che consiste nella colorazione bluastro-grigia della cute, ed è un effetto ottico causato dalla diffusione (scattering) della luce attraverso particelle di HA posizionate troppo superficialmente (solitamente nella zona del contorno occhi o labbra, in cui la cute è molto sottile). Asimmetrie, grumi e contorni irregolari possono di solito occorrere se il filler non è adeguatamente distribuito, e ciò porta all'ottenimento di un aspetto innaturale e conseguente insoddisfazione del paziente. Un altro tipo di risultato non soddisfacente riguarda le complicazioni strutturali, che includono edema, lividi, rigonfiamenti temporanei, che tipicamente insorgono subito dopo l'intervento estetico, oppure grumi localizzati e noduli non infiammatori, che sono indolore. Questo genere di complicazioni può derivare da inadeguate tecniche di

## 6 - EVIDENZE SCIENTIFICHE DI SICUREZZA

iniezione, da eccessive correzioni in corso d'opera, o dalla scelta di un filler non adatto alla zona da trattare, e ciò porta ad accumuli, posizionamenti sbagliati, oppure movimenti stessi del filler. Le migrazioni di filler possono avvenire anche molto tempo dopo l'intervento di applicazione. Altro genere di complicazioni riguarda quelle infiammatorie e immunologiche: esse includono lo sviluppo di noduli infiammatori, che possono comparire diverse settimane dopo l'intervento. Tipicamente sono rossi, caldi e dolorosi, e sono tra le complicazioni più frequenti dei filler a base di HA. Possono derivare a seguito di una reazione di ipersensibilità ritardata nei confronti del materiale di cui è composto il filler, o rispetto a frammenti di HA prodotti dalla sua degradazione; possono anche derivare da una risposta al biofilm generato entro il filler da batteri introdotti durante l'iniezione. Granulomi da corpi estranei possono svilupparsi anche mesi dopo l'intervento, e sono formazioni cistiche composte da cellule immunitarie venutesi a creare a seguito del fallimento della fagocitosi di sostanze estranee, il che porta a infiammazione cronica. Inoltre, sebbene rari, possono verificarsi anche edemi persistenti e risposte su base allergica, che portano ad anafilassi e gonfiore eritematoso. L'HA non è considerato un allergene significativo, ma le reazioni allergiche possono essere scatenate da impurezze proteiche e additivi presenti nel filler. Infine, la complicità più grave, ma fortunatamente con incidenza molto bassa (tra 0,001% e 0,005%) è rappresentata dai fenomeni di occlusione vascolare che possono insorgere durante l'intervento estetico. Si tratta di danni vascolari causati dall'iniezione,

## 6 - EVIDENZE SCIENTIFICHE DI SICUREZZA

seguiti da sanguinamento, gonfiore e infiammazione. Le occlusioni si possono verificare per compressione extra-vascolare, dettata o dal materiale iniettato che preme direttamente sul vaso, o dal turgore tissutale causato dalla ritenzione idrica dell'HA. Occlusioni generate da embolismo intra-vascolare derivano invece da filler iniettato direttamente entro il vaso sanguigno. L'occlusione, bloccando il flusso sanguigno, riduce o interrompe l'apporto di ossigeno ai tessuti. I primi segnali di ciò includono dolore, modifiche alla colorazione tissutale (sbiancamento) e riempimento capillare ritardato. Se non adeguatamente trattato, il danno vascolare può progredire: si può incorrere in ischemia e necrosi, con rischio di infezioni e cicatrici. Le occlusioni venose possono sfociare in necrosi e embolismo polmonare, quelle arteriose possono dare necrosi tissutale, e a seconda del movimento retrogrado dell'embolo, ictus o perdita della vista. La perdita permanente della vista è una conseguenza molto grave che può verificarsi a causa dell'iniezione di filler, e deriva da un embolo di HA che, viaggiando in modo retrogrado, può raggiungere e bloccare l'arteria centrale della retina. Le aree più a rischio sono quelle vicino agli occhi, come la glabella, la fronte e il dorso nasale.

La pratica clinica prevede l'utilizzo di iniezioni di ialuronidasi per gestire e risolvere queste complicazioni associate alle iniezioni di filler, andando a dissolvere l'HA in maniera controllata. Nonostante ciò, non esistono linee guida ufficiali o protocolli validati per questa pratica, tant'è che l'impiego di HYALs non è ufficialmente approvato dall'EMA; nella pratica si opera pertanto in condizioni di uso off-label.

## 6 - EVIDENZE SCIENTIFICHE DI SICUREZZA

Per questo motivo, si assiste a una consistente eterogeneità di trattamenti, che riguarda le dosi di HYAL applicate, le tecniche di iniezione, eventuali trattamenti adiuvanti, e i pre-test allergenici. Come conseguenza, ciò porta alla possibilità di eseguire trattamenti con efficacia ritardata, condiziona il grado di confidenza degli operatori e la fiducia dei pazienti, con il risultato finale di condurre interventi che possono nei casi peggiori sfociare in esiti non pienamente positivi.

## 7. CONCLUSIONI

L'acido ialuronico rappresenta oggi una delle molecole di maggiore interesse nei settori della cosmetica, della dermatologia e della medicina estetica, grazie alla sua elevata biocompatibilità, biodegradabilità e versatilità funzionale. Nel corso di questo lavoro è stato possibile evidenziare come le proprietà chimico-fisiche dell'HA, unite alla sua naturale presenza nella matrice extracellulare cutanea, ne facciano un componente fondamentale per il mantenimento dell'idratazione, dell'elasticità e dell'integrità strutturale della pelle.

L'analisi della letteratura scientifica ha mostrato che il ruolo biologico dell'acido ialuronico è strettamente correlato al suo peso molecolare, fattore che ne influenza profondamente le attività fisiologiche e biologiche. L'HA ad alto peso molecolare contribuisce principalmente al mantenimento dell'omeostasi tissutale e delle proprietà biomeccaniche cutanee, mentre le forme a basso peso molecolare risultano maggiormente coinvolte nei processi di rigenerazione cellulare, infiammazione e segnalazione biologica. Questa stretta relazione tra struttura e funzione ha consentito lo sviluppo di formulazioni differenziate e sempre più specifiche, adattate alle diverse esigenze terapeutiche ed estetiche.

Particolare attenzione è stata dedicata al rapporto tra acido ialuronico e invecchiamento cutaneo. Con l'avanzare dell'età, infatti, si assiste a una progressiva riduzione quantitativa e qualitativa dell'HA presente nella cute, fenomeno che contribuisce alla perdita di elasticità, alla

## 7 - CONCLUSIONI

disidratazione e alla comparsa dei principali segni dell'invecchiamento. A tali modificazioni si associano inoltre i danni indotti dai fattori estrinseci, in particolare dalla radiazione ultravioletta e dallo stress ossidativo, che alterano il metabolismo dell'HA e accelerano il deterioramento della matrice extracellulare.

In ambito cosmetico, l'acido ialuronico si è dimostrato un ingrediente estremamente efficace nel miglioramento dell'idratazione cutanea e dell'aspetto della pelle. Le differenti formulazioni oggi disponibili, comprendenti HA nativo, idrolizzato e derivati reticolati o funzionalizzati, permettono di sfruttare specifiche proprietà della molecola, come l'azione filmogena superficiale o la maggiore capacità di penetrazione negli strati cutanei. I prodotti topici a base di HA rappresentano pertanto una strategia non invasiva e generalmente sicura per contrastare i segni dell'invecchiamento cutaneo e migliorare la qualità della pelle.

Parallelamente, in medicina estetica l'impiego di filler iniettabili a base di acido ialuronico ha rivoluzionato l'approccio al ringiovanimento del volto e alla correzione dei volumi cutanei. L'evoluzione delle tecnologie di produzione e dei processi di crosslinking ha consentito di ottenere prodotti sempre più stabili, performanti e personalizzabili in funzione delle diverse indicazioni cliniche. Sebbene tali procedure siano generalmente considerate sicure ed efficaci, è emersa l'importanza di una corretta selezione del prodotto, di un'adeguata tecnica di iniezione e di una piena conoscenza delle possibili complicanze, al fine di ridurre il rischio di effetti avversi.

## 7 - CONCLUSIONI

Le evidenze scientifiche analizzate confermano complessivamente l'efficacia e la sicurezza dell'acido ialuronico sia in ambito cosmetico sia in medicina estetica. Tuttavia, nonostante i numerosi studi disponibili, permangono alcuni aspetti che richiedono ulteriori approfondimenti, in particolare riguardo ai meccanismi molecolari che regolano le differenti attività biologiche dell'HA, alla relazione tra peso molecolare e risposta cellulare, e agli effetti a lungo termine delle diverse formulazioni impiegate.

In conclusione, l'acido ialuronico può essere considerato una risorsa di straordinaria importanza per il trattamento e la prevenzione dell'invecchiamento cutaneo. Le continue innovazioni biotecnologiche e formulative lasciano prevedere un ulteriore ampliamento delle sue applicazioni future, non solo nel settore estetico e cosmetico, ma anche nell'ambito della medicina rigenerativa e del drug delivery. La comprensione sempre più approfondita delle sue proprietà biologiche e delle sue interazioni con i tessuti potrà contribuire allo sviluppo di prodotti e trattamenti sempre più efficaci, sicuri e mirati.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- [1] Al-Halaseh, Lidia K., et al. «A review of the cosmetic use and potentially therapeutic importance of hyaluronic acid». *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, luglio 2022, pp. 34–41. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.7324/JAPS.2022.120703>.
- [2] Arrigoni, Francesca, et al. «Hyaluronidase Use in Aesthetic Medicine: Formulations, Safety, and Clinical Practice». *Journal of Clinical Medicine*, vol. 15, fasc. 1, dicembre 2025, p. 279. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3390/jcm15010279>.
- [3] Averbeck, Marco, et al. «Differential Regulation of Hyaluronan Metabolism in the Epidermal and Dermal Compartments of Human Skin by UVB Irradiation». *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 127, fasc. 3, marzo 2007, pp. 687–97. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700614>.
- [4] Becker, Lillian C., et al. «Final Report of the Safety Assessment of Hyaluronic Acid, Potassium Hyaluronate, and Sodium Hyaluronate». *International Journal of Toxicology*, vol. 28, fasc. 4\_suppl, luglio 2009, pp. 5–67. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1177/1091581809337738>.
- [5] Boeriu, Carmen G., et al. «Production Methods for Hyaluronan». *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, vol. 2013, marzo 2013, pp. 1–14. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1155/2013/624967>.
- [6] Bravo, Bruna, et al. «Benefits of Topical Hyaluronic Acid for Skin Quality and Signs of Skin Aging: From Literature Review to Clinical

## 8 - BIBLIOGRAFIA

- Evidence». *Dermatologic Therapy*, vol. 35, fasc. 12, 2022, p. e15903. Wiley Online Library, <https://doi.org/10.1111/dth.15903>.
- [7] Brown, Tracey J., et al. «Absorption of Hyaluronan Applied to the Surface of Intact Skin». *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 113, fasc. 5, novembre 1999, pp. 740–46. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1999.00745.x>.
- [8] Bukhari, Syed Nasir Abbas, et al. «Hyaluronic Acid, a Promising Skin Rejuvenating Biomedicine: A Review of Recent Updates and Pre-Clinical and Clinical Investigations on Cosmetic and Nutricosmetic Effects». *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 120, dicembre 2018, pp. 1682–95. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.188>.
- [9] Chylińska, Natalia, e Mateusz Maciejczyk. «Hyaluronic Acid and Skin: Its Role in Aging and Wound-Healing Processes». *Gels*, vol. 11, fasc. 4, aprile 2025, p. 281. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3390/gels11040281>.
- [10] Cowman, Mary K., et al. «The Content and Size of Hyaluronan in Biological Fluids and Tissues». *Frontiers in Immunology*, vol. 6, giugno 2015. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00261>.
- [11] Cyphert, Jaime M., et al. «Size Matters: Molecular Weight Specificity of Hyaluronan Effects in Cell Biology». *International Journal of Cell Biology*, vol. 2015, 2015, pp. 1–8. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1155/2015/563818>.

## 8 - BIBLIOGRAFIA

- [12] Draelos, Z., et al. «Top Weapons in Skin Aging and Actives to Target the Consequences of Skin Cell Senescence». *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, vol. 38, fasc. S4, luglio 2024, pp. 15–22. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1111/jdv.19648>.
- [13] Fallacara, Arianna, et al. «Hyaluronic Acid in the Third Millennium». *Polymers*, vol. 10, fasc. 7, giugno 2018, p. 701. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3390/polym10070701>.
- [14] Frank, Konstantin, et al. «The Safety Profile of a Portfolio of Hyaluronic Acid-Based Soft Tissue Fillers Manufactured Using MACRO Technology: A Systematic Review of Clinical Evidence». *Life*, vol. 16, fasc. 1, gennaio 2026, p. 110. *www.mdpi.com*, <https://doi.org/10.3390/life16010110>.
- [15] Fraser, J. R. E., et al. «Hyaluronan: Its Nature, Distribution, Functions and Turnover». *Journal of Internal Medicine*, vol. 242, fasc. 1, luglio 1997, pp. 27–33. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.1997.00170.x>.
- [16] Fundarò, Salvatore Piero, et al. «The Rheology and Physicochemical Characteristics of Hyaluronic Acid Fillers: Their Clinical Implications». *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, fasc. 18, settembre 2022, p. 10518. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3390/ijms231810518>.
- [17] Garg, Hari G., e Charles A. Hales. *Chemistry and Biology of Hyaluronan*. 1st ed, Elsevier, 2004.

## 8 - BIBLIOGRAFIA

- [18] Ghersetich, Ilaria, et al. «HYALURONIC ACID IN CUTANEOUS INTRINSIC AGING». *International Journal of Dermatology*, vol. 33, fasc. 2, febbraio 1994, pp. 119–22. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1111/j.1365-4362.1994.tb01540.x>.
- [19] Girish, K. S., e K. Kemparaju. «The Magic Glue Hyaluronan and Its Eraser Hyaluronidase: A Biological Overview». *Life Sciences*, vol. 80, fasc. 21, maggio 2007, pp. 1921–43. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.02.037>.
- [20] Grabowski, Maciej, et al. «Hyaluronic Acid: Production Strategies, Gel-Forming Properties, and Advances in Drug Delivery Systems». *Gels*, vol. 11, fasc. 6, giugno 2025, p. 424. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3390/gels11060424>.
- [21] Grégoire, Sébastien, et al. «Hyaluronic Acid Skin Penetration Evaluated by Tape Stripping Using ELISA Kit Assay». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 224, febbraio 2023, p. 115205. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.115205>.
- [22] Hintze, Vera, et al. «Chemical Modification of Hyaluronan and Their Biomedical Applications». *Frontiers in Chemistry*, vol. 10, febbraio 2022, p. 830671. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.830671>.
- [23] Iaconisi, Giorgia Natalia, et al. «Hyaluronic Acid: A Powerful Biomolecule with Wide-Ranging Applications—A Comprehensive Review». *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, fasc. 12, giugno 2023, p. 10296. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3390/ijms241210296>.

## 8 - BIBLIOGRAFIA

- [24] Jiang, Dianhua, et al. «Hyaluronan as an Immune Regulator in Human Diseases». *Physiological Reviews*, vol. 91, fasc. 1, gennaio 2011, pp. 221–64. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1152/physrev.00052.2009>.
- [25] Juncan, Anca Maria, et al. «Advantages of Hyaluronic Acid and Its Combination with Other Bioactive Ingredients in Cosmeceuticals». *Molecules*, vol. 26, fasc. 15, luglio 2021, p. 4429. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3390/molecules26154429>.
- [26] Karabat, Mehmet Uğur, e Mehmet Cudi Tuncer. «Effects of Hyaluronic Acid on Skin at the Cellular Level: A Systematic Review». *Revista Da Associação Médica Brasileira*, vol. 71, 2025, p. e20250208. SciELO, <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20250208>.
- [27] Knopf-Marques, Helena, et al. «Hyaluronic Acid and Its Derivatives in Coating and Delivery Systems: Applications in Tissue Engineering, Regenerative Medicine and Immunomodulation». *Advanced Healthcare Materials*, vol. 5, fasc. 22, novembre 2016, pp. 2841–55. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1002/adhm.201600316>.
- [28] Kroumpouzou, George, e Patrick Treacy. «Hyaluronidase for Dermal Filler Complications: Review of Applications and Dosage Recommendations». *JMIR Dermatology*, vol. 7, gennaio 2024, p. e50403. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.2196/50403>.
- [29] La Gatta, Annalisa, Emiliano Bedini, et al. «Hyaluronan Hydrogels: Rheology and Stability in Relation to the Type/Level of Biopolymer Chemical Modification». *Polymers*, vol. 14, fasc. 12,

## 8 - BIBLIOGRAFIA

- giugno 2022, p. 2402. DOI.org (Crossref),  
<https://doi.org/10.3390/polym14122402>.
- [30] La Gatta, Annalisa, Rosanna Salzillo, et al. «Hyaluronan-Based Hydrogels as Dermal Fillers: The Biophysical Properties That Translate into a “Volumetric” Effect». *PLOS ONE*, a cura di Bing Xu, vol. 14, fasc. 6, giugno 2019, p. e0218287. DOI.org (Crossref),  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218287>.
- [31] Longas, Maria O., et al. «Evidence for Structural Changes in Dermatan Sulfate and Hyaluronic Acid with Aging». *Carbohydrate Research*, vol. 159, fasc. 1, gennaio 1987, pp. 127–36. DOI.org (Crossref),  
[https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90010-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90010-7).
- [32] Neuman, Manuela G., et al. «Hyaluronic Acid and Wound Healing». *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, vol. 18, fasc. 1, gennaio 2015, p. 53. DOI.org (Crossref),  
<https://doi.org/10.18433/J3K89D>.
- [33] Papakonstantinou, Eleni, et al. «Hyaluronic Acid: A Key Molecule in Skin Aging». *Dermato-Endocrinology*, vol. 4, fasc. 3, luglio 2012, pp. 253–58. DOI.org (Crossref),  
<https://doi.org/10.4161/derm.21923>.
- [34] Rakkhumkaew, Numfon, et al. «Hyaluronan Synthesis in Cultured Tobacco Cells (BY-2) Expressing a Chlorovirus Enzyme: Cytological Studies». *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 110, fasc. 4, aprile 2013, pp. 1174–79. DOI.org (Crossref),  
<https://doi.org/10.1002/bit.24783>.

## 8 - BIBLIOGRAFIA

- [35] Robert, L., et al. «Biological Effects of Hyaluronan in Connective Tissues, Eye, Skin, Venous Wall. Role in Aging». *Pathologie Biologie*, vol. 58, fasc. 3, giugno 2010, pp. 187–98. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.09.010>.
- [36] Röck, Katharina, et al. «miR-23a-3p Causes Cellular Senescence by Targeting Hyaluronan Synthase 2: Possible Implication for Skin Aging». *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 135, fasc. 2, febbraio 2015, pp. 369–77. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1038/jid.2014.422>.
- [37] Salwowska, Natalia M., et al. «Physiochemical Properties and Application of Hyaluronic Acid: A Systematic Review». *Journal of Cosmetic Dermatology*, vol. 15, fasc. 4, dicembre 2016, pp. 520–26. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1111/jocd.12237>.
- [38] Signorini, Massimo, et al. «Global Aesthetics Consensus: Avoidance and Management of Complications from Hyaluronic Acid Fillers—Evidence- and Opinion-Based Review and Consensus Recommendations». *Plastic & Reconstructive Surgery*, vol. 137, fasc. 6, giugno 2016, pp. 961e–71e. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000002184>.
- [39] Šínová, Romana, et al. «Hyaluronan: A Key Player or Just a Bystander in Skin Photoaging?» *Experimental Dermatology*, vol. 31, fasc. 4, aprile 2022, pp. 442–58. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1111/exd.14491>.
- [40] Skandalis, Spyros S., et al. «Intracellular hyaluronan: Importance for cellular functions». *Seminars in Cancer Biology*, Translating

## 8 - BIBLIOGRAFIA

- Extracellular Matrix, vol. 62, maggio 2020, pp. 20–30. *ScienceDirect*, <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.07.002>.
- [41] Snetkov, Petr, et al. «Hyaluronic Acid: The Influence of Molecular Weight on Structural, Physical, Physico-Chemical, and Degradable Properties of Biopolymer». *Polymers*, vol. 12, fasc. 8, agosto 2020, p. 1800. *DOI.org* (*Crossref*), <https://doi.org/10.3390/polym12081800>.
- [42] Stern, Robert, e Howard I. Maibach. «Hyaluronan in Skin: Aspects of Aging and Its Pharmacologic Modulation». *Clinics in Dermatology*, vol. 26, fasc. 2, marzo 2008, pp. 106–22. *DOI.org* (*Crossref*), <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2007.09.013>.
- [43] Turley, Eva A., et al. «Signaling Properties of Hyaluronan Receptors». *Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, fasc. 7, febbraio 2002, pp. 4589–92. *DOI.org* (*Crossref*), <https://doi.org/10.1074/jbc.R100038200>.
- [44] Valcarcel, Jesus, et al. «Hyaluronic Acid of Tailored Molecular Weight by Enzymatic and Acid Depolymerization». *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 145, febbraio 2020, pp. 788–94. *DOI.org* (*Crossref*), <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.221>.
- [45] Vigetti, Davide, et al. «Hyaluronan: Biosynthesis and Signaling». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, vol. 1840, fasc. 8, agosto 2014, pp. 2452–59. *DOI.org* (*Crossref*), <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.02.001>.
- [46] Voigt, Jeffrey, e Vickie R. Driver. «Hyaluronic Acid Derivatives and Their Healing Effect on Burns, Epithelial Surgical Wounds, and

## 8 - BIBLIOGRAFIA

- Chronic Wounds: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials». *Wound Repair and Regeneration*, vol. 20, fasc. 3, 2012, pp. 317–31. *Wiley Online Library*, <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2012.00777.x>.
- [47] Wang, Siew Tein, et al. «Glycosaminoglycans: Sweet as Sugar Targets for Topical Skin Anti-Aging». *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, Volume 14, settembre 2021, pp. 1227–46. *DOI.org (Crossref)*, <https://doi.org/10.2147/CCID.S328671>.
- [48] Weigel, Paul H., et al. «Hyaluronan Synthases\*». *Journal of Biological Chemistry*, vol. 272, fasc. 22, maggio 1997, pp. 13997–4000. *ScienceDirect*, <https://doi.org/10.1074/jbc.272.22.13997>.
- [49] Wu, Yiyang, et al. «Methods for Determining the Structure and Physicochemical Properties of Hyaluronic Acid and Its Derivatives: A Review». *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 282, dicembre 2024, p. 137603. *DOI.org (Crossref)*, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137603>.
- [50] Zanchetta, Catherine, et al. «Hyaluronic Acid in Topical Applications: The Various Forms and Biological Effects of a Hero Molecule in the Cosmetics Industry». *Biomolecules*, vol. 15, fasc. 12, novembre 2025, p. 1656. *DOI.org (Crossref)*, <https://doi.org/10.3390/biom15121656>.
- [51] Zhou, Rongying, e Mei Yu. «The Effect of Local Hyaluronic Acid Injection on Skin Aging: A Systematic Review and Meta-Analysis». *Journal of Cosmetic Dermatology*, vol. 24, fasc. 1, gennaio 2025, p. e16760. *DOI.org (Crossref)*, <https://doi.org/10.1111/jocd.16760>.