

دانشگاه تهران

پردیس علوم

دانشکده (علوم)

عنوان پایان نامه

تهیه و بررسی مشخصات بیوپلیمر هیالورونیک اسید به روش استخراجی

نگارش: محمد علی جانی

اساتید راهنما: دکتر ناصر قائمی و دکتر محمد نبی سربلوکی

رساله (پایان نامه) برای دریافت درجه (کارشناسی ارشد)

در

رشته تحصیلی شیمی کاربردی

شهریور ۸۷

چکیده فارسی:

هیالورونان یک ترکیب بیوپلیمیری است که بطور گسترده ایی در اکثر بافت ها موکونیدی مانند پوست، بندناف، تاج خروس و غیره موجود می باشد. مهمترین هدف این پایان نامه ارائه روشی جدید برای استخراج و جداسازی هیالورونان از تاج خروس می باشد. در این روش هیالورونان موجود در تاج خروس حاصل از کشتارگاه صنعتی واقع در استان کرمانشاه، استخراج و تعیین مشخصات گردیده است.

داده های طیف سنجی UV، IR، $^{13}\text{C-NMR}$ ، $^1\text{H-NMR}$ خلوص هیالورونان را تایید می نماید. وزن مولکولی برابر 270kDa، دمای تخریب و دمای انتقال شیشه به ترتیب برابر ۲۳۲ و ۵۳/۷۷- درجه سانتی گراد می باشد. استفاده از CTAB امکان جداسازی اختصاصی هیالورونان با راندمان استخراج حدود ۹۰٪ را نشان می دهد، روش بکار گرفته شده مانع از تخریب هیالورونان بهنگام جداسازی و خالص سازی می شود.

چکیده فارسی:

هیالورونان یک ترکیب بیوپلیمیری است که بطور گسترده ایی در اکثر بافت ها موکونیدی مانند پوست، بندناف، تاج خروس و غیره موجود می باشد. مهمترین هدف این پایان نامه ارائه روشی جدید برای استخراج و جداسازی هیالورونان از تاج خروس می باشد. در این روش هیالورونان موجود در تاج خروس حاصل از کشتارگاه صنعتی واقع در استان کرمانشاه، استخراج و تعیین مشخصات گردیده است.

داده های طیف سنجی UV، IR، $^{13}\text{C-NMR}$ ، $^1\text{H-NMR}$ خلوص هیالورونان را تایید می نماید. وزن مولکولی برابر 270kDa، دمای تخریب و دمای انتقال شیشه به ترتیب برابر ۲۳۲ و ۵۳/۷۷- درجه سانتی گراد می باشد. استفاده از CTAB امکان جداسازی اختصاصی هیالورونان با راندمان استخراج حدود ۹۰٪ را نشان می دهد، روش بکار گرفته شده مانع از تخریب هیالورونان بهنگام جداسازی و خالص سازی می شود.

فصل اوّل

مقدمه

۱-۱ هیالورونان

هیالورونان یک بیوپلیمر با وزن مولکولی خیلی بالا (10^6 - 10^7) دالتون است که از گلیکوآمینو گلیکان‌های غیر شاخه‌ایی که به صورت واحدهای تکراری دی ساکارییدی (β -۱ و ۳ N-D استیل گلیکوز آمین، β -۱ و ۴ D-گلوکورونیک اسید) آرایش می‌یابد، تشکیل شده است. این بیوپلیمر بطور گسترده‌ای در پیکره بین سلولی بافت‌های مهره داران^۱ توزیع شده است [۱]. این ترکیب به عنوان داربستی برای اتصال سایر مولکول‌های پیکره شامل، هیالکتان^۲ ها عمل می‌کند [۲ و ۳]. ترکیب فوق دارای مکانیسم سنتزی خاصی می‌باشد که در آن طول زنجیر در حال گسترش می‌باشد [۴]. این عمل برخلاف مسیر سنتز سایر گلیکوز آمینو گلیکان‌ها می‌باشد. به نظر می‌رسد که این مولکول با ارزش بوسیله یک گلیکوزیل ترانسفراز^۳ با دو نقش کاتالیزوری به منظور انتقال گلوکورونیک اسید و انتقال N-استیل گلیکوز آمین سنتز می‌گردد [۵]. این آنزیم همچنین با قرار گرفتن در غشای پلاسمای سلول‌ها منجر به تولید HA در بدن پستانداران می‌شود. هیالورونان برای اولین بار توسط کارل میر^۴ در سال ۱۹۳۴ گزارش و به جامعه بیوشیمی دانان جهان معرفی گردید [۶]. این ترکیب ابتدا از زجاجیه چشم^۵ به صورت یک پلی ساکارییدی که حاوی D - گلوکورونیک اسید و N-D- استیل گلوکز آمین است، جداسازی شد و بعد از ۲۰ سال کارل میر ساختار این ترکیب را که حاوی واحدهای تکراری با اتصال‌های β -۱ و ۴ و β -۱ و ۳ بود، تعیین کرد.

1- Vertebrate
2- Hyalactan
3- Glycosyltransferase
4- Karl Meyer
5- Vitreous Humor

هیالورونیک اسید بعدها از بسیاری بافت ها مثل مایعات بین مفصلی، تاج خروس^۱ و بند ناف^۲ استخراج گردید.

هیالورونان علاوه بر بافت‌ها و مایعات و سیالات بین مهره ای، در برخی گونه های باکتری نظیر استرپتوکوکوسی همولیت A,B نیز تولید می گردد [۷]. استخراج و جداسازی این ترکیب از بافت ها به راحتی صورت نمی گیرد و هیالورونیک اسید تهیه شده همیشه با مقادیری از پروتئین ها همراه می باشد که به عنوان ناخالصی شناخته می شوند [۸-۹-۱۰]. جدا کردن ناخالصی ها شامل استخراج پی در پی و کسل کننده است که منجر به پایین آمدن درصد پروتئین به میزان (۵/۰٪ وزنی) می شود. این مقدار پروتئین به عنوان ناخالصی، درصد بالایی می باشد. علت بالا بودن ناخالصی ها وزن مولکولی بالای HA است که باعث محبوس شدن و اتصال پروتئین های با اندازه های کوچک به این ساختار می شود [۱۱]. خواص فیزیکی هیالورونیک اسید تا حد بسیار زیادی با دیگر ترکیبات پیکره بین سلولی متمایز بوده و همین مجموعه خواص فیزیکی روش های کلاسیک بیوفیزیکی را به چالش می کشاند. چرا که روش های بیوفیزیکی کلاسیک مبتنی بر محلول های نیوتونی است. از لحاظ قیمت جهانی هر کیلو گرم هیالورونیک اسید که به صورت نمک اسیدی آن تولید می گردد در سال ۲۰۰۵ دویست و پنجاه هزار دلار بوده و عمده مصرف این ترکیب در جراحی چشم و قرنیه، درمان آرتروز و التهاب مفاصل خصوصاً زانو، جراحی غضروف اپی فیز، جراحی پوست (جراحات وارده نظیر سوختگی های پوستی، اگزما) و همچنین در لوازم آرایشی به عنوان مرطوب کننده است [۱۲]. از لحاظ مقداری میزان هیالورونان در برخی از بافت ها نظیر تاج خروس ۷۵ میکرو گرم بر گرم و در مایع زجاجیه چشم انسان ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر می

1- Rooster Comb
2- Umbilical Cord

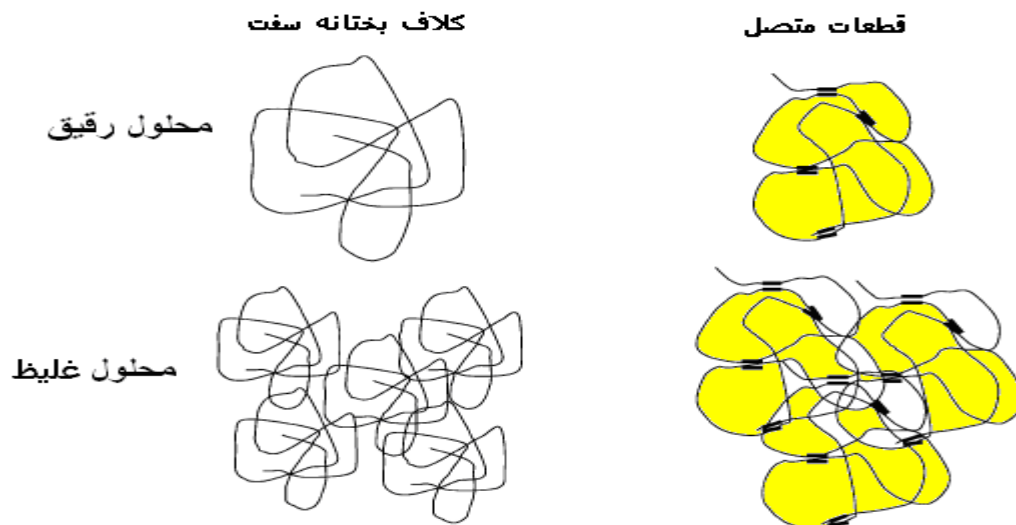
باشد [۱۳].

بالا ترین میزان غلظت های HA در چشم انسان در نزدیکی رینتای چشم قرار گرفته است .

۲-۱ خواص شیمی فیزیکی هیالورونان

در سال های ۱۹۵۰ و ۱۹۶۰ محققانی همچون Sandy Ogaton ,Toward Laurent, Ender, Balazs نتایج کارهای عملی و تئوری خود را در زمینه خواص فیزیکی HA اعلام نمودند [۱۴-۱۵]. خلاصه کار این محققان را می توان بصورت زیر نشان داد:

۱- به علت وزن مولکولی بالای هیالورونان و ساختار غیر شاخه ایی آن، این مولکول به صورت یک مارپیچ بختانه سفت در محلول قرار می گیرد (شکل شماره ۱).



شکل ۱۰۱ الگوهای رفتاری هیالورونان را در محلول نشان می دهد. در محلول های رقیق، هیالورونان به شکل یک مارپیچ پیچ خورده و در محلول های غلیظ به صورت مارپیچ های پیچ خورده ای که دچار گره خوردگی شده اند در می آید. وجود این گره خوردگی ها باعث تشکیل ژل و شبکه ایی شدن هیالورونان می گردد.

۲- جذب مقادیر زیادی آب، حتی در غلظت های پایین.

۳- هیالورونان به دلیل آنکه یک بیوپلیمر پلی الکترولیتی است، خواص محلول آن شدیداً وابسته به قدرت یونی محلول می باشد .

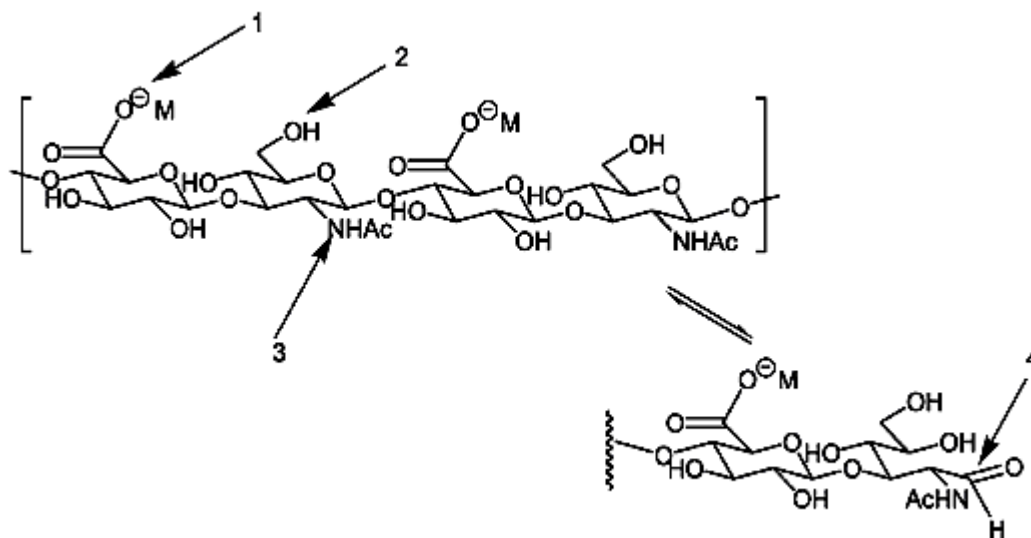
محلول های HA دارای خاصیت ویسکوالاستیک بوده و اساس رفتار آنها مبتنی بر رفتار محلول های غیر ایده آل است. در pH های طبیعی و محلول هایی با قدرت یونی بالا توسط گروه تحقیقاتی Laurent و Balazs، مشخص گردید که هیالورونیک اسید در این محلول ها بصورت کلاف بختانه^۱ و سفت شده وجود دارد. بعد ها مشخص گردید که علت این سختی به خاطر پیوند های هیدروژنی بین زنجیره های مجاور و نیروهای دافعه بین گروه های کربوکسیل می باشد [۱۴-۱۵]. و این اثرات با استفاده از روش های گوناگونی به اثبات رسیده است [۱۶-۱۷]. چرا که این روش ها باعث درک رفتار هیدرودینامیکی و رئولوژی (جریان شناسی) هیالورونان شده است و نیز مشخص می کند که رفتار این بیوپلیمر با بیوپلیمرهای دیگر نظیر دکستران متفاوت است. با استدلال آنکه ممکن است هیالورونیک اسید خود به خود منعقد گردد و از آنجایی که این انعقاد خود به خودی ضعیف و ناپایدار است، گروهی از محققین پس از بررسی های آزمایشگاهی به این نتیجه رسیدند که انعقاد خود به خودی هیالورونیک اسید ضعیف و ناپایدار می باشد [۱۸-۱۹]. به علاوه در غلظت های بالا مولکول های هیالورونان به کندی در هم نفوذ می کنند، بنابراین ضریب خود نفوذی ناشی از نیروهای بین زنجیری خیلی پایین یا تقریباً برابر صفر می باشد [۱۸-۱۹]. از مولکول هایی با میزان فلورسانس پایین و اندازه معلوم می توان برای بدست آوردن اطلاعاتی در رابطه با شبکه های زنجیری در محلول هیالورونان غلیظ شده و میزان تحرک زنجیره هیالورونان استفاده کرد.

1- Random coil

خواص شیمیایی هیالورونان از دو لحاظ بررسی می شود:

۱- ساختار

HA یک پلی مر خطی (گلوکز آمینو گلیکان) بلند و پلی آنیونیک می باشد که ساختار دی ساکارییدی در آن تکرار می شود. هر مونومر دارای اتم های هیدروژن غیر قطبی در موقعیت محوری و گروه های جانبی خیلی قطبی در موقعیت استوایی می باشد. بنابراین این ترکیب از خود رفتار آب دوستی و آب گریزی نشان می دهد (شکل شماره ۲).



شکل ۲. شمائی از گروه های عاملی موجود در مولکول می باشد ۱-گروه کربوکسیل ۲-گروه هیدروکسیل ۳-

استامید ۴- گروه احیاء شونده در پایان مولکول

از آنجایی که مونومر ها به وسیله پیوند های β -۱ و β -۳ و β -۱ و β -۳ به هم متصل شده اند، هر مونومر در مقایسه با مونومر دیگر در زنجیر از لحاظ داشتن صورت های آب دوست و آب گریز وارونه است.

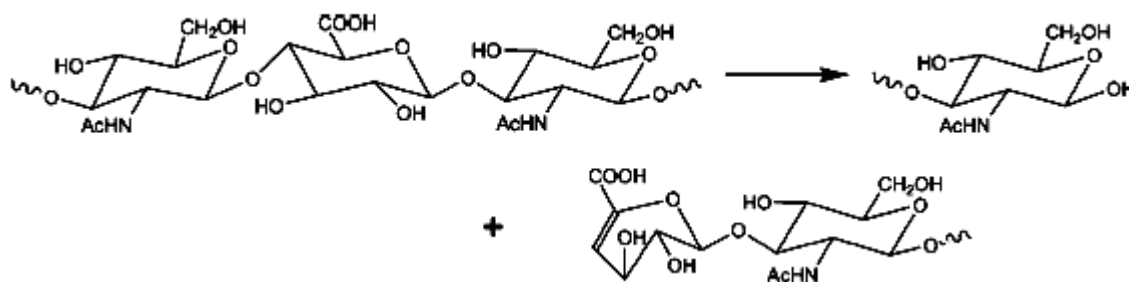
بنابراین با ایجاد چنین آرایشی یک ساختار روبان پیچ خورده ایجاد می گردد. به این ساختار، ساختار اول HA می گویند. این ساختار به پلیمر بصورت همزمان خاصیت آب دوستی و آب گریزی می دهد. همچنین انتظار می رود که به دلیل نیروهای بین مولکولی موجود بین حلال و HA این ترکیب در حلال به ساختار ثانویه^۱ تبدیل گردد. علت پدید آمدن این ساختار، بخش های آب دوست و آب گریز می باشند.

۲- هیدرولیز آنزیمی

شکستن پیوند ها در HA توسط فعالیت آنزیمی ترکیب هیالورونیداز صورت می گیرد که این آنزیم در غشای باکتری های بیماری زا ، اسپرم ، سم مار ، سم عنکبوت ، سم زنبور ، بزاق زالو و تومورهایی که به سرعت در حال تکثیر می باشند، یافت می گردد [۲۰]. آنزیم هیالورونیداز موجود در باکتری ها و سم ها با تجزیه HA بین سلولی، باعث ایجاد التهاب و عفونت می شوند. آنزیم هیالورونیداز موجود در کیسه آکرزوم موجود در اسپرم با حل کردن دیواره تخمک شرایط لقاح را میسر می کند. بسته به مکانیسم عمل، سه نوع آنزیم هیالورونیداز موجود می باشد: اولین نوع آنزیم در غدد جنسی نر در کیسه آکرزوم اسپرم، همچنین در سم برخی حشرات و سم خزندگان موجود می باشد. این آنزیم با هیدرولیز پیوند β -۱و۴ باعث ایجاد الیگومر ساکاریدی (معمولاً^۴ واحد ساکاریدی یا بیشتر) می گردد. سرعت واکنش با کاهش طول زنجیر HA به شدت کم می شود. نوع دوم شامل هیالورونیداز باکتری می باشد که این آنزیم هم با شکستن پیوند های β -۱و۴ نقش خود را ایفا می کند ولی بر خلاف آنزیم نوع اول سرعت واکنش با کاهش طول زنجیر کاهش نمی یابد. نوع سوم آنزیم هیالورونیداز در بزاق زالو می باشد که همراه هیپارین ترشح می گردد و می تواند با شکستن پیوند های β -۱و۳ نقش خود را ایفا کند. نتیجه این عمل تشکیل تتراساکارید همراه با

1-secondary

گلوکورونیک اسید است. آنزیم هیالورونیداز زالو یک آنزیم پلیمری بنام آندوپلی گلوکورونیداز می باشد [۲۰]. به همین منظور برای جلوگیری از هیدرولیز ناخواسته آنزیمی HA، تاکید می شود که عمل استخراج توسط کلروفرم و در دمای پایین صورت بگیرد [۲۱ تا ۲۸]. مکانیسم عمل این دسته از آنزیم ها در شکل (۳) نشان داده شده است.



شکل ۰۳ اثر آنزیم بر هیالورونیک اسید

۱-۲-۱ تخریب از طریق اکسایش- کاهش

HA تحت تاثیر سیستم های اکسایش- کاهش تجزیه می شود و در زجاجیه چشم بوسیله آسکوربیک اسید مکانیسم تجزیه ایی آن تسریع می گردد [۲۹]. این واکنش تجزیه ایی در حضور هیدروژن پراکسید یا مقادیر خیلی اندکی از یون های مس و حتی حضور اکسیژن نیز انجام می گردد که منجر به کاهش وزن مولکولی و در نهایت کاهش گرانشی محلول هیالورونیک اسید می شود. واکنش آسکوربیک اسید در حضور دی اتیل دی تیوکربامات کامل می گردد [۳۰]. شکستن HA به وسیله سیستم های اکسیداسیون و احیاء با توجه به مکانیسم رادیکال آزاد پیش می رود. معمولاً این رادیکال های آزاد به وسیله وجود یون های فلزی، نظیر یون Cu^{+2} و یا H_2O_2

وجود می آیند. HA نیز می تواند تحت تاثیر تبدیل Fe^{+2} به Fe^{+3} در حضور عوامل کاهنده تجزیه گردد [۳۱].

با توجه به اینکه عمل تخریب HA در حضور عوامل اکسایش و کاهش صورت می گیرد، تاکید می شود که HA را در یک اتمسفر خنثی مانند جو نیتروژن نگه دارند. در این جو HA می تواند با بالاترین وزن مولکولی وجود داشته باشد. همچنین گزارشات نشان می دهد که عمل اکسیداسیون- احیاء در حضور فلزات سنگین تسریع می گردد.

۲-۲-۱ هیدرولیز بازی و اسیدی HA

ماکرومولکول HA بسیار حساس به pH های گوناگون می باشد. حتی اسیدی کردن توسط یک اسید ضعیف مانند استیک اسید منجر به کاهش غیر برگشت پذیر وزن مولکولی و گرانشی می گردد [۳۲]. هیالورونان به طور کامل توسط اسید های معدنی هیدرولیز شده و محصول جانبی آن گلوکز آمین، استیک اسید، کربن دی اکسید و گلوکوزونیک اسید خواهد بود. فعالیت و عمل سولفوریک اسید برای یک مدت کوتاه منجر به تشکیل بلورهای دی ساکاریدی می گردد [۳۳].

مولکول های HA می توانند حتی در غلظت های خیلی کم مانند یک میلی گرم بر لیتر دچار خود تجمعی گردند و در نهایت به یک شبکه توری مانند تبدیل شوند. نیرو های ضعیف بین مولکولی منجر به پایداری این شبکه می گردد و پایداری این شبکه منوط بر کنترل دما و برخی شرایط خاص نظیر کنترل نیروهای برشی می باشد. زمانی که این ساختار شبکه ای در داخل آب قرار می گیرد با جذب آب این ماده بصورت گرانشی در می آید، با توجه به این خاصیت:

۱- HA دارای خاصیت گرانشی بوده و باعث ایجاد خواص روان کنندگی در مفصل می گردد.

۲- HA دارای خاصیت کشسانی بوده و با جذب شوک های فیزیکی مانع تخریب و صدمه رساندن به مفاصل می گردد.

به مایعات یا محلول هایی که در یک زمان خاصیت کشسانی و گرانروی را با هم دارند، محلول های ویسکوالاستیک گفته می شود. محلول های رقیق از HA دارای خواص ویسکوالاستیک می باشند.

۱-۲-۳ گرانروی

این خاصیت ذاتی همه محلول ها می باشد که به وسیله آن میزان سیال بودن یک ماده را اندازه گیری می کنند. رفتار گرانروی در محلول های مختلف را می توان به دو گروه تقسیم کرد:

۱- محلول های نیوتونی : در این محلول ها با تغییر در سرعت نیروهای برشی مانند هم زدن، گرانروی و وزن مولکولی تغییر نمی کند.

۲- محلول های غیر نیوتونی : یک محلول غیر نیوتنی بطور قابل توجهی در مقابل نیروهای برشی مقاومت می کند اما با افزایش نیروی برشی میزان گرانروی کاهش می یابد. بنابراین با افزایش هم زدن، محلول، روان تر می گردد.

۱-۲-۴ خاصیت کشسانی

این خاصیت ویژه اغلب پلیمرها است. هنگامی که نیروی کششی بر روی یک پلیمر اعمال می گردد این نیرو جذب شده و در مقابل، پلیمر هم تحت تاثیر این نیرو تغییر شکل می دهد البته مقدار نیرو وارده باید طوری باشد که پلیمر دچار تغییر شکل کامل نگردد. به محض حذف نیرو پلیمر دوباره به حالت اولیه خود می گردد. در این حالت انرژی جذب شده معمولاً بصورت گرما آزاد می شود. این تعریف را تحت عنوان خاصیت کشسانی تعبیر می کنند.

۳-۱ نقش و عمل هیالورونان

در بخش میان مفصلی، هیالورونان را می توان در سلول های سینووسیت و سلول های پوششی غشای سینوویال که در عمق سطح لایه اپی فیز قرار دارند، پیدا کرد. سینوویست ها باعث می شوند همه بخش های حفره های مفصلی که دچار التهاب شده اند، از هیالورونان پر گردد [۳۴]. مطابق یک تقسیم بندی سینوویست ها به دو گروه سلول های سینوویست نوع A, B تقسیم می شوند [۳۵]. بر طبق گزارشات، نقش اصلی تولید و سنتز HA مرتبط به سلول های نوع A می باشد [۳۶]. پیکره غشای سینوویال حاوی ۴۰-۱۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر هیالورونان می باشد. همچنین هیالورونان توسط گروهی از باکتری های همولیتیک استرپتوکوکوسی به حالت آزاد و به صورت کپسول محافظتی در سلول باکتری ایجاد می گردد [۳۷]. اغلب مفاصل در اسکلت انسانی حاوی مایع بین مفصلی هستند که این مفاصل ممکن است از لحاظ تحرک با هم متفاوت باشند اما از لحاظ ساختمانی شبیه به هم هستند. هر مفصل از ۲ یا تعداد بیشتری سر استخوان تشکیل می گردد. پوشش غضروفی بین مفصلی از سر استخوان محافظت می کند. فیبروکارتیلاژ هلالی شکل مفصل دارای چنین حالتی است. عملکرد مفاصل شدیداً وابسته به شرایط مایع سینوویال مفصلی می باشد و HA می تواند این شرایط را برای بهتر کردن عملکرد مفاصل ایجاد کند. این ماده حیاتی در پیکره غضروف، موجب قوام و کشسانی غضروف می گردد. همچنین این ترکیب علاوه بر داشتن خاصیت ویسکوالاستیکی از آنجایی که حفره های بین مفاصل را پر می کند باعث می شود که حرکت اندام به راحتی انجام بگیرد و از التهاب سلول های بین مفصلی ناشی از مواد کاتابولیکی نظیر سیتوکین ها^۱ و رادیکال های آزاد جلوگیری کرده و با عمل پوشاندن گیرنده های درد، باعث کاهش آن می شود. مجموع این

1-cytocin

عوامل منجر به یکنواختی مفصل و بهبود در عملکرد آن می گردد. فضای بین غشای سینوویال با یک سیال گرانو که مایع سینوویال نام دارد پر می گردد. SF¹ مانند سایر دیگر سیالات بدن در حمل و نقل اکسیژن و به عنوان حامل مایعات زاید ناشی از متابولسیم عمل می کند. ماده اصلی موجود در SF هیالورونان می باشد. این ماده به عنوان عامل حفاظت در مفاصل شامل نقش روان کنندگی، جذب شوک های وارده و صافی عمل می کند. SF همچنین حاوی محلول های پیچیده مثل پروتئین ها، الکترولیت ها، پوریک اسید و گلوکز می باشد. SF سالم تقریباً حاوی ۰/۲ تا ۰/۴ درصد هیالورونان با میانگین وزن مولکولی ۴ تا ۵ میلیون دالتون می باشد. HA اساساً توسط سینوویسیت های موجود در غشای سینوویال تولید می گردد. تعادل مشخصی بین تولید و تجزیه هیالورونیک اسید وجود دارد. SF در کل با حفظ خاصیت همئوستاز مفصل نقش خود را ایفا می کند. خاصیت شبکه ای بودن هیالورنان باعث جذب مواد غذایی از طریق حفره های سینوویال می گردد. همچنین به خاطر حضور این ماده، عوامل ایجاد التهاب مانند برخی پروتئین ها نمی توانند وارد این بخش شوند. بطور کلی سایر مواد به استثنای پروتئین های ایجاد کننده التهاب، با اندازه های مختلف با تاخیر و بر اساس حجم هیدرودینامیکی می توانند از داخل این شبکه عبور کنند. نقش هیالورونان از لحاظ کاهش و تعدیل درد در مفاصل بسیار مهم می باشد.

هیالورونان به وسیله سلول های سینوویستی می تواند تولید و در نهایت وارد حفره سینوویال گردد. هیالورنان موجود در SF همچنین به شکل گیری یک لایه پوششی بر روی کل سطح مفصل کمک می کند. این لایه اساساً از هیالورونان تشکیل می گردد و در ارتباط با پروتئین ها می باشد. ضخامت آن تقریباً ۲ میکرومتر است که نقش مهمی را در حفاظت غضروف دارد. لایه هیالورونان دائماً در حال تخریب و نوسازی می باشد. در یک مفصل سالم این روند تجزیه و تولید هیالورونان برای نگه

داشتن خاصیت همئوستاز مفصل بسیار ضروری است. همانطور که گفته شد HA در سال ۱۹۳۴ از زجاجیه چشم گاو جداسازی شد. تحت شرایط فیزیولوژی HA به فرم اسیدی آن نیست. این ترکیب بیوپلیمری با خلوص و جرم مولکولی بالا در درمان برخی بیماری ها استفاده می گردد. HA تقریباً در همه جا و در فاصله بین سلولی بدن وجود دارد و نقش آن به عنوان عنصر ساختاری می باشد. اما عملکرد آن با توجه به اینکه در کدام قسمت از بدن قرار گیرد متفاوت است. هیالورونان می تواند:

۱- نقش مهمی را در فرایندهای تعمیر و بازسازی بافت به صورت یک عامل وساطت کننده در سلول و ایجاد و تحریک رشد رگ های خونی ایفا کند.

۲- با نگهداری و جذب مقادیر زیادی آب، به حفظ و کنترل رطوبت بافت کمک کند.

۳- به سبب داشتن خواص ویسکوالاستیک از بافت ها در مقابل شوک و فشار بیش از حد کمک کند.

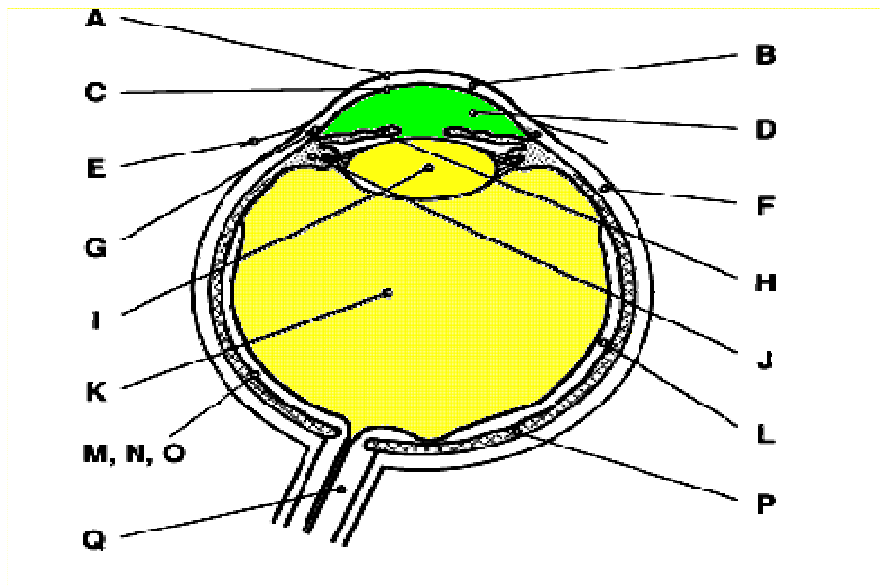
تخلیه و از بین رفتن HA ، در بافت اغلب باعث ایجاد التهاب، ایجاد برخی از سرطان ها، بیماری پوستی، آرتروز و رماتیسم مفاصل می گردد.

۱-۳-۱ هیالورونان و پروتئین های مربوطه در سیستم بینایی

هیالورونان یک ماده اساسی در زجاجیه چشم جانداران می باشد و به خاطر خواص ویسکوالاستیکی آن در جراحی های متنوع چشم بکار می رود. هیالورونان در چندین فرایند زیستی نظیر چسب سلولی و انتقال و تکثیر سلولی شرکت دارد. مطالعات اخیر بر روی سنتز [۳۸] ، اتصال پروتئینی [۳۹] و گیرنده های موجود در عمل سیگنال رسانی [۴۰-۴۱]، بینش جدیدی را در

فهم عملکرد هیالورونان در سیستم بینایی ایجاد کرده است. برخی از پروتئین ها همراه با HA یک داربست ماکرومولکولی را به عنوان پیکره بین سلولی ایجاد می کنند.

شکل (۴) تصویر برش عرضی چشم را به منظور نمایش ساختارهای داخلی آن نشان می دهد.



A: قشر سطحی قرنیه، B و C: بخش میانی و داخلی قرنیه، D: مایع زلالیه، E: ملتحمه چشم F: صلبیه G: شبکیه
 ماهیچه ایی، H: عنبیه، I: عدسی، J: اجزای مژکی، K: زجاجیه، L: رتینا، M: ماتریس گیرنده نوری درونی N:
 رنگدانه رتینال O: غشای بروچس، P: مشیمیه، Q: اعصاب نوری

۱-۳-۲ غشای قرنیه

هیالورونان موجود در قرنیه چشم به رشد و تکثیر سلول های آن ناحیه کمک می کند [۴۲ تا ۴۴]. در حالی که سایر ترکیبات همچون کندرویتین، کراتان سولفات و هیپارین سولفات فاقد چنین رفتاری هستند [۴۵]. هیالورونان همچنین سبب ایجاد رطوبت در سطح قرنیه شده و اکسیژن

رسانی را به این بخش تسریع می کند [۴۶]. از دیگر مزایای وجود HA، تسریع و درمان سطح آسیب دیده قرنیه می باشد. در حالت عادی مقادیر زیادی از پروتوگلیکان ها بین فضای بیرون سلولی در غشای مخاطی قرنیه توزیع شده است [۴۷]. در قرنیه های طبیعی، HA به پروتئین CD44 واقع در پایه سلول های غشایی متصل شده است [۴۸ تا ۵۰].

۱-۳-۳ مایع زجاجیه : Aqueous Humor

منشأ هیالورونان در داخل زجاجیه چشم واضح نیست. اما می توان گفت که از بخش قدامی چشم تولید می گردد. مایع زجاجیه در بالغین دارای غلظت بالایی از هیالورونان می باشد [۵۱]. یافته ها نشان می دهند که غلظت هیالورونیک اسید در غشای قرنیه پس از ایجاد جراحات به شدت افزایش می یابد. این در حالی است که غلظت هیالورونیک اسید در داخل زجاجیه افزایش چندانی نمی یابد [۵۲]. کورتیکواستروئیدها از توسعه آسیب دیدگی و کاهش میزان هیالورونیک اسید در قرنیه و زجاجیه چشم جلوگیری می کنند [۵۳].

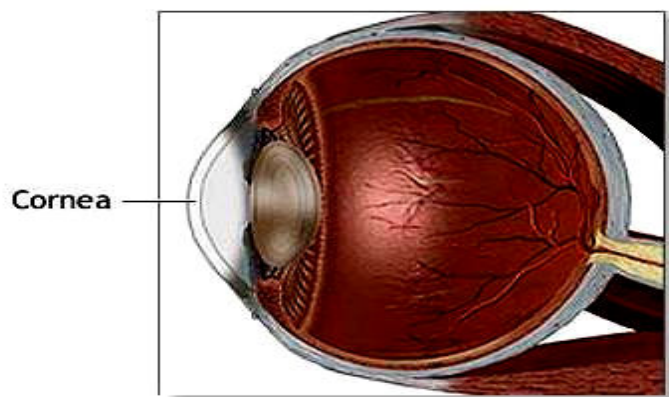
۱-۳-۴ عدسی ها (Lens)

هیالورونان و پروتئین CD44 (گیرنده های هیالورونان)، در پیکره بیرون سلولی بر روی سطح داخلی کپسول عدسی جمع می شوند [۵۴]. سلول های ایمنی مخاطی جداره ی لنز «عدسی چشم» نسبت به پروتئین های CD44 از خود واکنش نشان می دهند. در حالیکه نسبت به هیالورونان کاملاً بی تفاوت هستند [۵۵]. پروتئین CD44 که در اتصال سلول های مخاطی عدسی نقش دارند به همراه هیالورونان موجب بقاء و دوام عدسی چشم می گردند.

۱-۳-۵ برخی از بیماری های رایج چشمی ایجاد شده مرتبط به افزایش یا کاهش هیالورونان و پروتئین های متصل به آن

اختلال قرنیه (Corneal Disorders)

ادعا می شود که هیالورونان نقش خیلی زیادی در سلامتی قرنیه ها ندارد. اما از آنجایی که در مخاط، استروما^۱ غشای داخلی و همچنین در کل چشم وجود دارد، فقدان آن در قرنیه منجر به طیف وسیعی از اختلالات قرنیه ای گردد. شکل (۵) نمایشی از سطح قرنیه است.



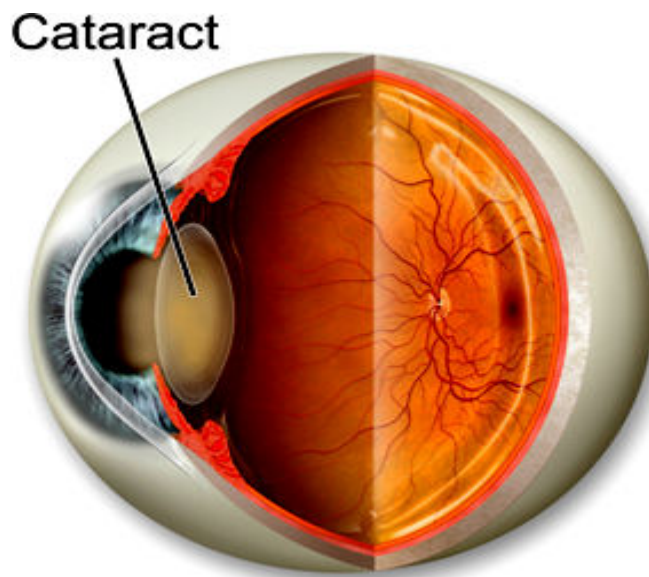
شکل ۵. شمائی از برش عرضی چشم

در قرنیه های طبیعی پروتئین CD44 اساساً بر روی غشای سلول های پایه ای مخاطی و بر روی کراتوسیت ها قرار دارد و نه بر روی سلول های داخلی قرنیه. مشاهده شده که افزایش پروتئین CD44 بر روی غشای قرنیه باعث ایجاد التهاب و برخی آسیب ها به این بخش می گردد.

1- Esteroma

آب مروارید (Cataracts)

سلول های مخاطی عدسی چشم هیچ گونه واکنش ایمنی نسبت به هیالورونان ندارند [۵۵]. بنابراین این واکنش ایمنی به دنبال جراحت بر روی عدسی های چشم انسان ایجاد می شود [۵۶]. دیده شده که پروتئین های CD44 در سلول های کشت شده مخاطی عدسی چشم که دچار آب مروارید گردیده به مقدار فراوان موجود است [۵۷]. بنابراین هم هیالورونان و هم CD44 ممکن است در شکل گیری آب مروارید تاثیر بسزایی داشته باشند. شکل (۶) چگونگی ایجاد آب مروارید را نشان می دهد.



شکل ۰۶ شمائی از ایجاد آب مروارید