

## اسیدهیالورونیک و پیری پوست

مونا ملک محمدی<sup>۱</sup>دکتر حسین عبدالتهرانی<sup>۱</sup>دکتر ناصر اقدمی<sup>۲</sup>

۱. گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده‌ی

علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس،  
تهران، ایران

۲. گروه سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه

رویان، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسئول:

مونا ملک محمدی

تهران، خیابان جلال آل احمد، دانشگاه  
تربیت مدرس، دانشکده‌ی علوم پزشکی،  
صندوق پستی ۳۳۱-۱۴۱۱۵

پست الکترونیک:

monamalek.m@gmail.com

تعارض منافع: اعلام نشده است.

اسید هیالورونیک، عمده‌ترین و مهم‌ترین جزء تشکیل‌دهنده‌ی ماتریکس خارج سلولی، یک گلیکوزآمینوگلیکان است که آب جذب می‌کند و به مقدار زیاد در بافت آسیب‌دیده در حال ترمیم یا در حال رشد دیده می‌شود. کمبود اسید هیالورونیک یکی از عوامل اصلی و اساسی بروز ضایعات پوستی به‌ویژه با بالا رفتن سن است. بیشتر از ۵۰٪ از کل اسید هیالورونیک بدن در پوست قرار دارد زیرا برای ثبات و نگهداری ماتریکس داخلی و بسیاری از عملکردهای سلول‌ها مورد نیاز است. یکی از راه‌های ترمیم جراحات پوستی استفاده از ژل‌های پرکننده حاوی اسیدهیالورونیک خارجی است. از این جهت که این مواد منشأ درونی انسانی ندارد و از حیوانات و یا باکتری‌ها تهیه می‌شود، در بسیاری از موارد باعث بروز حساسیت‌های پوستی می‌شوند و نیمه‌عمر کوتاهی دارند. تلاش برای حفظ و یا افزایش ترشح اسید هیالورونیک توسط سلول‌های فیبروبلاست پوست انسان در پیشگیری و برطرف کردن علائم پیری پوست بسیار حائز اهمیت است.

**کلیدواژه‌ها:** ماتریکس خارج سلولی، فیبروبلاست، پیری پوست، پرکننده‌ها

دریافت مقاله: ۹۰/۰۸/۲۴ پذیرش مقاله: ۹۰/۰۹/۱۸

پوست و زیبایی؛ پاییز ۱۳۹۰، دوره‌ی ۲ (۳): ۱۸۷-۱۷۴

## اسیدهیالورونیک

اسیدهیالورونیک (HA) Hyaluronic Acid یا هیالورونان، یک مکانیزم غالب برای رطوبت پوست است که باید در فرآیند مسن‌شدن دخیل باشد. هیالورونان حجم فراوانی از آب جذبی دارد. آبی که مولکول‌های اسید هیالورونیک را احاطه کرده در تعادل با باقی‌مانده‌ی آب بدن نیست بلکه دربرگیرنده‌ی اجزای خود است. در واقع، یک فرد ۷۰ کیلوگرمی ۱۵ گرم اسید هیالورونیک دارد، که نصف آن در پوست است. تغییر و تبدیل اسید هیالورونیک با نیمه‌عمر ۱ تا ۲ روز نیز در پوست به سرعت انجام می‌شود<sup>۱،۲</sup>. البته، زیست‌شناسی اسید هیالورونیک پوست و آب مرتبط به آن به‌عنوان کارکرد سن هنوز به‌خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته است. فهم متابولیسم HA، واکنش‌های آن در

پوست، و کنش متقابل اسید هیالورونیک با سایر اجزای پوست، فهم سال‌خوردگی پوست و هم‌چنین کاهش رطوبت پوست را آسان می‌کند. اجزای اصلی پوست در دهه‌های گذشته به خوبی مشخص شده‌اند. اولین مطالعات به سلول‌هایی اختصاص یافته بود که پوست را می‌سازند: اپی‌درم، درم و زیرجلد. قابل‌قدردانی است که امروزه موادی که بین سلول‌ها قرار دارند مورد توجه قرار دارند. اجزای ماتریکس، نقش‌های آموزنده‌ای برای فعالیت سلول و بافت ایفای می‌کنند. با وجود این‌که، ماتریکس خارج سلولی (ECM) Extracellular matrix با میکروسکوپ نوری به‌نظر نامنظم جلوه می‌کند، اما، ساختار بسیار سازمان‌یافته‌ای از گلیکوزآمینوگلیکان‌ها (GAGs) Glycosaminoglycans، پروتئوگلیکان‌ها، گلیکوپروتئین‌ها، فاکتورهای رشد پپتیدی و پروتئین‌های ساختاری (مانند کلاژن و به‌مقدار کمتری

موضوع پیوند b یک کنجکاوای ساده شمیمیدان‌های کربوهیدرات نبود بلکه به مراتب فراتر از علائق آن‌ها بود. گلیکوژن یک پلیمر با اتصال‌های  $\alpha$  گلوکز است. تغییر اتصال‌ها به  $\beta$  پیوند پلیمر را به سلولز تبدیل می‌کند. کیتین، به صورت یک زنجیره با وزن مولکولی بالا، از N - استیل گلوکزآمین با اتصالات  $\beta$  است. اگرچه کیتین و سلولز فراوان‌ترین پلیمرهای قندی در سطح کروی خاکی هستند. اما، چنین پلیمرهای قندی با اتصالات  $\beta$  در بافت مهره‌داران فراوان نیستند، و آنزیم‌های مورد نیاز برای سوزاندن آن‌ها در بافت‌ها در سطح محدود وجود دارند، که برای پیش‌ماده‌ی خود می‌توانند برای قرن‌ها باقی بمانند. هیالورونان با پیوندهای کووالانسی به پروتئین‌هایی مانند بازدارنده‌ی تریپسین درون - آلفا پدید می‌آید، یک پروتئین پلازما که به‌عنوان تثبیت‌کننده‌ی ساختارهای غنی از اسیدهیالورونیک عمل می‌کند، مانند توده‌ی ابری متراکم است که اطراف تخمک پستانداران را احاطه کرده است.<sup>۳</sup>

دومین مولکول اسید هیالورونیک دربرگیرنده‌ی حجم زیادی آب است که در فضای خارج سلولی پخش می‌شود. آب به بافت می‌رساند، و مسئول حفظ رطوبت پوست در درم است. هم‌چنین جزء اصلی تشکیل‌دهنده‌ی تورم در پاسخ التهابی است. هیالورونان قابلیت گسترش سطح حیطه‌ی حلالش، حتی تا ۱۰۰۰ برابر حجم واقعی‌اش، را دارا می‌باشد. اسید هیالورونیک حتی در غلظت‌های پایین نیز چگالی بالایی دارد.<sup>۳</sup>

اسیدهیالورونیک با میکروسکوپ الکترونی به صورت یک پلیمر خطی دیده می‌شود، خیلی پاشیده (polydisperse) است، اما معمولاً توده مولکولی میلیونی دارد. اسید هیالورونیک در محلول با pH فیزیولوژیک و غلظت‌های نمکی، یک مارپیچ تصادفی گسترده با قطر ۵۰۰ nm است. مدل‌های موجود پیشنهاد می‌کند که برای اسید هیالورونیک با توده مولکولی بالا، یک ابرسازمان مولکولی از شبکه‌هایی تشکیل شده است که مولکول‌های آن به موازات هم به

الاستین) را شکل می‌دهد. بیشتر اسید هیالورونیک پوست در ECM قرار دارد. در حقیقت، اسیدهیالورونیک جزو غالب ECM پوست است. پیشرفت‌های اخیر در جزئیات متابولیسم اسید هیالورونیک می‌تواند روشن‌گر مشاهده‌ی طولانی و ارزشمندی باشد که نشان می‌دهد آسیب اکسایش حاصل از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشی اکسیژن و آسیب حاصل از نور ماورای بنفش آفتاب باعث پیری زودرس پوست می‌شود. این فرآیندها مکانیزم مشابهی با پیری طبیعی دارند که اسید هیالورونیک در آن یک مشتق‌کننده‌ی مشترک است. تلاش‌ها برای افزایش رطوبت اجزای پوست، در عنصری‌ترین عبارت‌ها، افزایش سطح و مدت زمان حضور اسید هیالورونیک در پوست، نگهداری حد مطلوب طول زنجیره‌ی پلیمر، و افزایش بیان بهترین مجموعه پروتئین‌های متصل به اسید هیالورونیک برای تزئین مولکول است.<sup>۳</sup>

## ساختار هیالورونان

هیالورونان توسط کارل میر در سال ۱۹۳۸<sup>۴</sup> به‌عنوان ماده‌ای که شامل اسید هگزورونیک (که باعث تورم ماده‌ی شفاف چشم می‌شود) است شناسایی شد. بیست‌سال طول کشید تا ساختار شیمیایی اسید هیالورونیک ثابت شود. بعدها کشف شد که این ماده در همه‌ی بافت‌های مهره‌داران وجود دارد. هیالورونان یک پلی‌ساکارید با وزن مولکولی زیاد و بسیار آنیونیک است و زنجیره‌ی صاف GAG متشکل از واحدهای تکراری متغیر از گلوکورونیک اسید و N - استیل گلوکزآمین است، که همه با اتصال‌های  $\beta$ GlcAb (1:3) GlcNAc b (1:4) به هم وصل شده‌اند که ممکن است به اندازه‌ی ۱۰۷ Da برسد. هیالورونان ساده‌ترین و تنها GAG غیرسولفات‌ه است، گلیکوآمینوگلیکانی است که به صورت کووالانسی به یک مرکز پروتئینی وصل نیست و با مسیر دستگاه گلژی ساخته نمی‌شود.<sup>۵</sup>

چسبیدگی سلول به ماتریکس را تنظیم می‌کند، رشد و تکثیر را بالا می‌برد و تمایز را کاهش می‌دهد. در فرآیندهای بنیادی از قبیل تکامل و در شکل‌گیری جنین، ترمیم جراحی، اصلاح و بازسازی، و التهاب شرکت دارد. سطوح هیالورونان در جواب به استرس شدید، و در پیشرفت و هجوم تومور گسترش می‌یابد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که اسید هیالورونیک داخل سلولی نیز وجود دارد.<sup>۷</sup> البته، فعلاً کارکردهای اسید هیالورونیک داخل سلولی ناشناخته است. اگرچه حضور مداوم اسید هیالورونیک مانع تمایز سلولی نیز می‌شود، ولی در عوض محیطی ایجاد می‌کند که تکثیر سلول را بالا می‌برد. سطح‌های بالا رفته‌ی ضدچسبندگی اسید هیالورونیک سطحی که تفکیک سلول را ارتقا می‌دهند نیز به سلول‌های جنینی اجازه‌ی مهاجرت و به سلول‌های توموری اجازه‌ی حرکت و متاستاز می‌دهد. جذب آب نیز فضاهایی برای ایجاد یک محیط مجاز برای چنین جنبش سلولی را مهیا می‌کند.<sup>۳</sup>

ماتریکس خارج سلولی که اطراف سلول‌ها را احاطه کرده است نیز شامل سطوح مختلفی از اسید هیالورونیک است. محیط خارج سلولی به‌طور بارزی از پروتئین‌های ساختاری مانند کلاژن و الاستین، هم‌چنین پروتئوگلیکان‌ها و تعدادی گلیکوپروتئین تشکیل شده است. مقدار اسید هیالورونیک در ECM جنینی، و در بافت‌هایی که در حال تغییر و ترمیم هستند، از همه بیشتر است. تیغه یا غشای پایه که درم و اپی‌درم را از یکدیگر جدا می‌کند نیز یک ساختار ECM به حساب می‌آید. غشای پایه دارای اسید هیالورونیک می‌باشد، اگرچه ساختار دقیق آن هنوز مشخص نیست. از دست دادن اسید هیالورونیک غشای زیرین در پوست بیماران دیابتی با سختی پوست‌شان همبستگی دارد. تعدادی از فاکتورهای رشد که درون ECM واقع شده‌اند، برای حفاظت در مقابل تجزیه، به‌وسیله‌ی اجزای ECM غلیظ‌شده و چنین فاکتورهای

طول صدها نانومتر حرکت می‌کنند و باعث تشکیل لایه‌های مسطح و ساختارهای لوله‌ای مجزایی می‌شوند که بعد به‌صورت توده‌های مشابه به هم متصل می‌شوند. شواهد محکمی وجود دارد که یک پل آبی بین گروه‌های استامید و کربوکسیل در ساختار ثانویه دخالت دارد. فزون بر این، ساختار ثانویه متصل به هیدروژن هم صف‌های بزرگ گروه‌های CH به هم پیوسته‌ای را نشان می‌دهد که ویژگی آب‌گریزی به قسمت‌هایی از پلیمر می‌دهد که ممکن است در تراکم عرضی یا خود - پیوندی و برای کنش متقابل با غشا مهم باشد. این خصوصیت آب‌گریزی ممکن است در جدایی زنجیره‌های تازه ساخته‌شده‌ی اسید هیالورونیک از سطح سیتوپلاسمی غشای پلاسمایی (جایی که HAS واقع شده است) از میان غشا به بیرون سلول، دخالت داشته باشد. سومین ساختار غیرعادی صفت پلیمری نیز بر همین تعامل‌های آب‌گریز استوار شده است.<sup>۳</sup>

### عملکرد هیالورونان

هیالورونان به‌رغم ساختار ساده‌اش، به‌طور شگفت‌انگیزی عملکردهایش گسترده است. در غلظت بالا، همان‌طور که در ECM درم و اپی‌درم هم یافت می‌شود، تعادل آب و فشار اسمزی را تنظیم می‌کند، به‌عنوان یک رزین تعویض‌کننده‌ی یون عمل کرده، و جریان یون‌ها را تنظیم می‌کند. هیالورونان به‌عنوان یک الک عمل می‌کند، یک سری مولکول‌های خاص را خارج می‌کند، تا حیطةی خارج سلولی سطوح سلول، مخصوصاً سطح شفاف سلول‌های اندوتلیال را توسعه دهد. هم‌چنین می‌تواند به‌عنوان یک روان‌کننده و ضربه‌گیر عمل کند. هیالورونان هم‌چنین می‌تواند به‌عنوان یک مولکول ساختاری، مانند آنچه در شبکه‌ی چشم، در مایع مفصل، و ژله‌ی وارتون وجود دارد عمل کند.<sup>۳</sup> هیالورونان جنبندگی سلول‌ها را بالا می‌برد، بازدارنده‌ی اثر متقابل سلول بر سلول است، و

سایتوکاین‌های التهابی را افزایش می‌دهد. اسید هیالورونیک تا قسمتی تجزیه‌شده باشد ممکن است اثر متضادی داشته باشد، شاید به این دلیل که دیگر توانایی حفظ و آزادکردن فاکتورهای رشدی مانند  $TGF-\beta$  را ندارد<sup>۱</sup>. این مشاهده‌ها مربوط به درک جنبه‌های آسیب‌شناسی پوست است. برای مثال، رنگ‌آمیزی شدید برای اسید هیالورونیک در ضایعه‌ی پسوریاتیک ۱ ممکن است به دلیل تخریب قسمتی از اسید هیالورونیک رگ‌زا باشد، و ممکن است سازوکاری برای رشد مویرگ‌های مشخص و التهابی‌ای باشد که این جراحات‌ها را مشخص می‌کند<sup>۲</sup>.

تلاش‌هایی برای تحریک ذخیره‌سازی اسید هیالورونیک پوست به منظور بهبود حفظ آب در پوست و معکوس کردن اثرهای پیری صورت گرفته است که باید با احتیاط همراه باشد و مراقبت شود که اسید هیالورونیک ذخیره‌شده از نوع وزن مولکولی بالا باشد. این کار می‌تواند با جلوگیری کاتالیز از شکسته‌شدن زنجیره‌ی رادیکال آزاد و جلوگیری دقیق از واکنش‌های کاتابولیک هیالورونیداز انجام پذیرد. از جدیدترین پیشرفت‌ها دریافت این واقعیت است که اسید هیالورونیک و هیالده‌رین‌های ملحق به آن درون سلولی هستند، و اثرهای مهمی بر سوخت‌وساز سلولی دارند. خیلی از پیشرفت‌ها حاصل توانایی برداشتن ECM سلول‌های کشت‌شده با استفاده از هیالورونیداز استرپتومایسیس بسیار خاص است. با نفوذپذیرکردن سلول‌ها و استفاده از میکروسکوپ هم‌کانون ممکن است از روش‌های تعیین محل برای شناسایی اسید هیالورونیک داخل سلولی و پروتئین‌های همراه آن استفاده شود. به نظر می‌آید برخی از کمپلکس‌های اسید هیالورونیک داخل سلولی (در دامنه‌ی وسیعی از انواع سلول‌ها) جزئی از ماتریکس هسته باشند و در تنظیم چرخه‌ی سلول و رونویسی از ژن‌ها اهمیت داشته باشد. اما، تا کنون هیچ کارکرد قطعی‌ای از آن‌ها نشان داده نشده است. توانایی اتصال اسید هیالورونیک

به‌عنوان سازوکار کنترل رشد و تعدیل‌کننده‌ی عملکرد به سلول‌ها عرضه شده‌اند. هپاران پروتئوگلیکان سولفات‌دار اعضای خانواده‌ی FGF و EGF را به هم متصل می‌کند درحالی که اسید هیالورونیک می‌تواند فاکتورهای رشدی مانند  $TGF-\beta$  را به هم پیوند دهد، نیز آن‌ها را از هضم‌شدن توسط پروتئوگلیکان‌ها حفظ کند<sup>۳</sup>. البته، تصویر پیچیده‌ای در ذهن پدید می‌آید که دو نوع GAG، اسید هیالورونیک و هپاران سولفات، عملکردهای متضادی دارند. درحالی که پروتئوگلیکان‌های سولفات هپاران بالا برنده تمایز هستند، درحالی که سولفات هپاران پزوتوگلیکان‌ها تمایز را تشویق می‌کند، یک محیط غنی از اسید هیالورونیک برای حفظ حالت تمایزنیافته، چندتوانی، آسان‌سازی تحرک و تکثیر سلول‌ها لازم است<sup>۳</sup>.

به‌هرحال، غلظت اسید هیالورونیک در ECM می‌تواند بسیار متفاوت باشد. حتی در مواقعی که سطح اسید هیالورونیک کاهش پیدا کرده باشد (مانند نواحی مشخص فیبروز) به‌عنوان سازمان‌دهنده‌ی ECM به‌عنوان داربستی که سایر ماکرومولکول‌های ECM جهت خود را در آن می‌یابند عمل می‌کند. ابعاد رشته‌های کلاژن با میزان اسید هیالورونیک تعدیل می‌شوند، به این معنا که رشته‌های نازک‌تر و ظریف‌تر در ناحیه‌ی اسید هیالورونیک با غلظت بالا بیشتر ترجیح داده می‌شوند. در کشت‌های فیبروبلاست، اضافه‌کردن اسید هیالورونیک خارجی به محیط، قطر رشته‌های کلاژن تجمع یافته را کاهش می‌دهد. توانایی اسید هیالورونیک در تحریک تکثیر سلول تا حدی به اندازه‌ی مولکول اسید هیالورونیک بستگی دارد، یعنی اثرهای متضادی در اندازه‌های بالا و متوسط به‌دست می‌آید. اسید هیالورونیک با وزن مولکولی زیاد ضد‌رگ‌زایی است، درحالی که اسید هیالورونیک با وزن مولکولی متوسط به شدت خاصیت رگ‌زایی دارد، رشد سلول‌های اندوتلیال را تحریک می‌کند، سلول‌های التهابی را جذب می‌کند و هم‌چنین بیان

تا  $40 \text{ mg/L}$  می‌باشد. این تعداد با بالا رفتن سن افزایش می‌یابد و احتمالاً منعکس کننده‌ی پاک‌سازی (ترخیص) آهسته‌تر و کاهش ظرفیت تخریب اسید هیالورونیک می‌باشد، اگرچه، این مورد هنوز به‌دقت بررسی نشده است. اسید هیالورونیک در گردش خون بیماران کبدی نیز (مخصوصاً در سیروز کبدی، و در ازکارافتادگی کبد) منعکس کننده‌ی تخریب نابه‌جا، در ورم‌های روماتیسمی و به‌طور پیوسته در برخی تومورهای بدخیم به‌دلیل افزایش ساخت بافت تومور افزایش می‌یابد.<sup>۳</sup>

### فعالیت‌های ویژه‌ی اندازه‌ی الیگومرهای هیالورونان

پلیمرهای اسید هیالورونیک برون سلولی با وزن مولکولی بالا مولکول‌های فضاپرکنی هستند که به بافت‌ها آبرسانی می‌کنند و ضد رگ‌زایی هستند. این پلیمرها هم‌چنین ضد التهابی و فرونشاندن سیستم ایمنی بدن هستند که تا حدی حاصل توانایی پلیمرهای فضاپرکن برای جلوگیری از دست‌یابی لیگاندها به گیرنده‌های سطحی سلول می‌باشد. قطعه‌های  $20 \text{ kDa}$ ، به شدت رگ‌زا بوده و محرک ساخت سایتوکاین‌های التهابی هستند، اسید هیالورونیک رونویسی ماتریکس متالوپروتئین‌ها را افزایش داده و محرک شناسایی جراحات توسط اندوتلیال‌ها می‌باشند. الیگومرها، در اندازه‌های  $6 \text{ kDa}$  تا  $20$  بیان ژن‌های التهابی را در سلول‌های تک‌هسته‌ای و دندریت‌ها افزایش می‌دهند. در نتیجه قطعه‌های هیالورونان به شدت رگ‌زا، التهابی و تحریک‌کننده‌ی سیستم ایمنی هستند. اولیگوساکاریدهای بسیار کوچک اسید هیالورونیک نیز فعالیت ویژه‌ی خود را دارند. تتراساکاریدها بیان پروتئین‌های شوک گرمایی را افزایش می‌دهند، ضد آپوپتوز بوده و بازدارنده‌ی مرگ سلولی هستند. این قطعه‌های کوچک کاتابولیس  $\text{HA}$ ، اثر قطعه‌های حد میانی رگ‌زا و التهابی را بهبود می‌بخشند. ظاهراً

به خود، با گیرنده‌های سطحی سلول، با پروتئین‌ها، یا با سایر  $\text{GAG}$ ها حکایت از تردستی (همه‌کاره‌بودن) این مولکول خارق‌العاده دارد. ضوابط لازم برای ذخیره‌سازی اسید هیالورونیک به همراه این مرحله‌های گسترده و متعدد بستگی به سطوح دقیق شبکه‌های سنتز و تخریب دارد. به‌طور کلی، هیالورونان در فضای بین سلولی، در بافت همبند مزانشیمی بدن، تولید شده و بیشتر محصول فیروبلاست‌ها است. از طریق لنف‌ها به خون می‌رسد. بیشتر تغییر و تبدیل  $\text{HA}$ ، (تقریباً  $85$  درصد)، در سیستم لنفاوی صورت می‌گیرد. باقی‌مانده‌ی آن ( $15$  درصد) که به جریان خون می‌رسد تغییر و تبدیل شدیدی با نیمه‌عمر  $3$  تا  $5$  دقیقه دارد، به این معنا که فوری به وسیله‌ی گیرنده‌های موجود در کبد، و هم‌چنین با سازوکار ناشناخته‌ای در کلیه حذف می‌شود. وقتی سرخرگ‌های کبدی یا کلیه‌ای بسته می‌شوند، سطح اسید هیالورونیک گردش‌کننده (در خون) فوری بالا می‌رود<sup>۱</sup>. این‌گونه انسان‌ها روزانه چندین گرم اسید هیالورونیک می‌سازند و تخریب می‌کنند. افزایش سریعی در اسید هیالورونیک در حال گردش خون افراد با استرس شدید (مانند هنگام شوک‌شدن، عفونت خون به‌وسیله‌ی ارگانیسم‌های چرکی یا Septicemia، آسیب شدید) و در مجروحان سوختگی پدید می‌آید<sup>۱</sup>. چنین اسیدی ممکن است به‌عنوان گسترش‌دهنده‌ی حجم، در قالب سازوکاری برای حفظ بقاء و جلوگیری از افت ناگهانی فشارخون (سکته قلبی) عمل کند. برخی از این افزایش‌های سریع اسید هیالورونیک نمایانگر اسید هیالورونیک به‌کار گرفته‌شده از ذخیره‌های بین سلولی و بافت‌ها و از لنف‌ها و نه کاملاً بازتاب افزایش ساخت یا کاهش تخریب آن باشد. به‌ر حال در شرایط استرس حاد، نیمه‌عمر آن به  $20$  تا  $45$  دقیقه می‌رسد و سطح‌های بالای پلاسمای اسید هیالورونیک با کاهش میزان تغییر و تبدیل آن هم بسته است. میانگین سطح سرم و پلاسمای اسید هیالورونیک در افراد سالم جوان به  $20$

## گیرنده‌های هیالورونان

گیرنده‌های HA، به شکل‌های بی‌شماری وجود دارند، تنوع خود را مدیون بیان آگزون‌های متغیر و نیز اصلاح‌های پس از ترجمه هستند. مکان‌های متعدد کنترل‌کننده‌ی ساخت HA، ذخیره‌سازی، سلول و پروتئین پوست و تخریب بازتابی از پیچیدگی متابولیسم اسید هیالورونیک است. رابطه‌ی آن‌ها از طریق توانایی تعیین سکانس سریع با استفاده از روش‌های جدید ژنتیک مولکولی روشن می‌شود. امروزه که ژن‌های آنزیم‌ها و پروتئین‌ها شناخته شده‌اند و تحلیل سکانس‌ها سریع اجرا می‌شود، رشد فراوانی در اطلاعات و در درک زیست‌شناسی اسید هیالورونیک پدید آمده است.<sup>۳</sup>

### الف) CD44

پروتئین‌های پیوست به اسید هیالورونیک گوناگون بوده که به‌طور وسیعی به هر دو صورت سیتوپلاسمی و هسته‌ای با تنوع گسترده‌ای در جایگاه‌ها، در ECM، پیوست سطح سلول، داخل سلولی، در سیتوپلاسمی و هسته توزیع شده‌اند. اگرچه، آن‌هایی که گیرنده‌ها را می‌سازند همان‌هایی هستند که اسید هیالورونیک را به سطح سلول ضمیمه می‌کنند. در این میان، CD44 برجسته‌ترین آن‌هاست<sup>۱۳</sup>، یک گلیکوپروتئین تراغشایی است که به‌صورت ایزوفرم‌های بسیار متنوعی، محصول‌های یک ژن تکی با بیان آگزون‌های متنوع می‌باشد. بسته به نوع گونه‌ها، CD44 با چهار آگزون ثابت، به‌علاوه از ۰ تا ۱۰ یا ۱۲ آگزون متغیر گذشته، همه به درون یک جایگاه خارج سلولی واحد، نزدیک محل ورود غشا، وارد می‌شوند. تنوع بیشتر CD44 می‌تواند در نتیجه‌ی گلیکوزیکه‌شدن پس از ترجمه، اضافه‌شدن GAG‌های مختلف، شامل کندروایتین سولفات و هیپاران سولفات، ایجاد شود.<sup>۳</sup>

پروتئین CD44 می‌تواند به لیگاند‌هایی متصل شود که برخی از آن‌ها هنوز شناسایی نشده‌اند. به‌هر حال،

طبیعت سازوکاری را فراهم کرده که واکنش‌های استرس را کنترل کند تا تحت بررسی قرار دهد.<sup>۳</sup>

از آن‌چه در این مشاهده‌ها مطرح شد می‌توان چنین نتیجه گرفت که قطعه‌قطعه‌شدن اسید هیالورونیک در حین مسیر کاتابولیک خود، محصولاتی را به‌وجود می‌آورد که در فرایندهای اساسی، با اندازه‌ی مخصوص و به‌طور گسترده ایجاد تفاوت و گاهی تضاد در فعالیت‌های زیستی می‌کنند. فرضیه‌ی کاری این است که کاتابولیسم اسید هیالورونیک یک فرآیند بسیار مرتب، به‌دقت کنترل‌شده و سازوکاری متکی به تعدیل فعالیت‌های آنزیم فردی است. نهایتاً این‌که قطعات اسید هیالورونیک یک سامان غنی اطلاعاتی هستند<sup>۱۱</sup>.

## پروتئین‌های متصل به هیالورونان، هیالادهرین (Hyaladherines)

هیالورونان در چند وضع در بدن مهره‌داران وجود دارد. درون ECM، می‌تواند در میان پروتئوگلیکان‌های پروتئین‌های متصل‌کننده به قواره شبیه برس شیشه‌شوی جاداده شود. می‌تواند با گیرنده‌های سطح سلولی به سلول‌ها متصل باشد. مقداری از هیالورونان‌ها به‌صورت آزاد در سیستم لنفاوی و قلبی عروقی در گردش است. اگرچه، حتی در این شکل نسبتاً آزاد هم، تعدادی پروتئین پیوندی وجود دارند که اسید هیالورونیک را تزئین می‌کنند. از این‌ها به‌طور جمعی به‌عنوان هیالادهرین‌ها یاد شده است<sup>۱۲</sup>. هیالادهرین‌ها توسط باندهای الکتروستاتیک یا کووالانسی به اسید هیالورونیک می‌پیوندند. پرواضح است که برخی از خصوصیت‌های نسبت‌داده‌شده به اسید هیالورونیک نیز یک کارکرد هیالادهرین‌های متصل به اسید هیالورونیک هستند. فاکتورهای رشد، کلاژن‌ها، و بسیاری از پروتئین‌های دیگر شناسایی شده‌اند. تغییر در شکل هیالادهرین به‌عنوان کارکرد پیری، به‌طور خاص، پیری پوست، بررسی نشده است، ولی برای درک سازوکار پیری پوست اهمیت دارند.<sup>۳</sup>

سلول‌ها است. در فیبروبلاست‌ها،  $TGF-\beta$  رونویسی، ساخت، بیان غشایی نه تنها RHAMM بلکه سنتز و بیان اسید هیالورونیک و همه‌ی آن‌چه یکباره با شروع حرکت اتفاق می‌افتد را، راه‌اندازی می‌کند.<sup>۳</sup>

به‌طور خلاصه، CD44 و RHAMM ممکن است در میان پیچیده‌ترین مولکول‌های زیستی، با حرکت در اجزای گسترده‌ای از سلول‌ها، و همراه با طیفی از فعالیت‌ها در هدایت سیگنالی، جنبش، و دگرگونی سلولی دخالت کنند. بی‌ثباتی آشکار بین مشاهده‌های آزمایشگاه‌های مختلف در رابطه با گیرنده‌های CD44، و RHAMM بیانگر روش‌های ظریفی است که اسید هیالورونیک فضای وسیع اثرات زیستی خود و سازوکارهای بی‌شمار کنترل سطوح بیان و ذخیره‌ی اسید هیالورونیک را آشکار می‌کند. به‌ویژه در شرایط تجربی آزمایشگاه‌ها، تغییرات جزئی در شرایط کشت، تفاوت‌های شماره‌ی پاساژ سلولی، طول مدت کشت، تفاوت در شرایط فاکتورهای رشد موجود در هر lot سرم، یا تفاوت موجود در مرحله‌ی پرکردن کف ظرف کشت، اثرات مهمی در بیان HA، گیرنده‌های آن و اجزایی که مولکول اسید هیالورونیک را تزیین می‌کند دارد که این باعث تغییرات مرتبط با سن در سلول‌های کشت‌شده‌ی پوست می‌شود.

یکی از مهم‌ترین چالش‌ها، شناسایی شکل هیال چسبان ویژه‌ی اسید هیالورونیک درم و اپی‌درم، برای توصیف این پروتئین‌ها و درک عملکرد آن‌ها در رابطه با سن است. در یک آزمایش پوست برای عملکرد سن، همان‌طور که انتظار می‌رفت سطح‌های اسید هیالورونیک کاهش پیدا نکرد، بلکه به‌جای آن اتصال اسید هیالورونیک به پروتئین‌های بافت محکم‌تر و استخراج اسید هیالورونیک به‌صورت فزاینده‌ای مشکل‌تر شد.<sup>۱۵</sup> چالش دیگر فهم این مطالب است که چگونه اسید هیالورونیک به‌عنوان یک پیش‌ماده برای تخریب به‌وسیله‌ی هیالورونیداز با هیال‌آدهرین‌های همراه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. البته منطقی است که ساختار

مشخص شده که CD44 با فیبرونکتین، کلاژن و فاکتورهای رشد هیپاران - پوست تعامل می‌کند. پروتئین CH44 به‌طور گسترده توزیع شده و در تمام سلول‌ها به‌جز گلبول‌های قرمز خون یافت می‌شود. در اتصال سلول، مهاجرت، فعالیت لنفوسیتی و لانه‌گذاری، و در متازستاز سرطان نقش ایفا می‌کند. پیدایش اسید هیالورونیک در درم و اپی‌درم به موازات تعیین محل CD44 در بافت‌شناسی است. البته هنوز طبیعت اگزون‌های متغیر CD44 در پوست در هر محدوده توصیف نشده است. توانایی CD44 برای اتصال به اسید هیالورونیک می‌تواند به‌دلیل بیان متفاوت اگزون‌ها، متفاوت باشد. می‌تواند از علائق درونی باشد که بفهمیم با تغییر در وضعیت آب پوست به‌عنوان یکی از کارکردهای پیری می‌توان فهمید چه تعدیلی در بیان تنوع اگزون CN44 پدید می‌آید. مثلاً اسید هیالورونیک در ماتریکسی که اطراف کراتینوسیت‌ها را گرفته درحالی‌که از درم مهاجرت می‌کند به‌عنوان یک زیرلایه‌ی چسبنده برای سلول‌های لانگرهانس با سطوح غنی از CD44، عمل می‌کند.<sup>۳</sup>

### ب) RHAMM

یکی دیگر از اصلی‌ترین گیرنده‌های شناخته‌شده برای HA، RHAMM گیرنده برای تسهیل جنبش HA-mediated یا (RHAMM) می‌باشد. این گیرنده درگیر حرکت سلول، تغییر و تبدیل چسبندگی کانونی، و ممانعت تماسی است که به‌صورت ایزوفرم‌های متفاوتی نیز بیان شده است.<sup>۱۴</sup> تعامل‌های بین اسید هیالورونیک و RHAMM حرکت سلول‌ها را به‌وسیله‌ی شبکه‌ی پیچیده‌ای از هدایت‌های سیگنالی و برهم‌کنش با اسکلت سلولی (Cytoskeleton) تنظیم می‌کند. البته تنظیم‌کننده‌ی مهمی در رشد سلول نیز می‌باشد.

عامل رشد توموری بتا ( $TGF-\beta$ ) کنام سلول‌ها را با به‌کارگیری RHAMM تحریک می‌کند و  $TGF-\beta$  یک محرک قوی برای حرکت در بسیاری از انواع مختلف

بافت را افزایش می‌دهد. وقتی که بافت در معرض اسید فرمالین/الکل قرار گرفت، اسید هیالورونیک وابسته به بافت، با کاهش اندکی در اسید هیالورونیک آشکار مشاهده شده در اینکوبه کردن اضافی، به‌طور محکم تثبیت می‌شود، درحالی‌که بافت‌های تثبیت‌شده با فرمالین کاهش فزاینده‌ای در ازدست‌دادن مداوم اسید هیالورونیک از خود نشان می‌دهند.<sup>۳</sup>

### هیالورونان اپی‌درم

تا همین اواخر، تصور می‌شد که سلول‌های با منشأ مزانشیمی توانایی سنتز اسید هیالورونیک را دارند، بنابراین اسید هیالورونیک مختص قسمت‌های درم پوست است. به‌هرحال، با ورود روش‌های ویژه برای تعیین محل اسید هیالورونیک در بافت، پتید متصل به اسید هیالورونیک بیوتین‌دار، شواهد وجود اسید هیالورونیک در اپی‌درم نمایان شدند. به‌علاوه، روش‌های جداسازی درم از اپی‌درم، اندازه‌گیری صحیح میزان اسید هیالورونیک در هر قسمت، که تأیید می‌کرد اپی‌درم دارای اسید هیالورونیک است، را ممکن ساخت.

آشکارترین هیالورونان در بخش خاردار و دانه‌دار اپی‌درم، یعنی جایی که بیشترین آن ماتریکس خارج سلولی است، وجود دارد. لایه‌ی پایه نیز اسید هیالورونیک دارد، اما بیشتر آن از نوع داخل سلولی است، که به‌راحتی در تثبیت آبدار خارج نمی‌شود. احتمالاً، اسید هیالورونیک کراتینوسیت پایه در رویدادهای چرخه‌ی سلولی دخالت دارد، درحالی‌که اسید هیالورونیک ترشح‌شده در لایه‌های بالایی و بیرونی اپی‌درم سازوکارهای برای جداشدن و در حقیقت ریزش طبیعی سلول‌ها (پوست‌اندازی) است.<sup>۱۵</sup> کشت کراتینوسیت‌های جداشده، مطالعه‌ی متابولیسم اسید هیالورونیک را آسان کرده است.<sup>۱۸</sup> کراتینوسیت‌های پایه مقدار فراوانی از اسید هیالورونیک را می‌سازند. وقتی  $Ca^{+2}$  در محیط کشت

ثانویه‌ی پلیمر اسید هیالورونیک تا حدی به‌وسیله‌ی هیال‌آدهرین‌های متصل به آن تعدیل شده باشد.

از یک موش با کمبود CD44 (که مشخص شده است فنوتیپ تقریباً معقولی دارد) چنین برمی‌آید که گیرنده‌های دیگر اسید هیالورونیک ممکن است جایگزین CD44 شده باشند.<sup>۱۶</sup> در حقیقت، قطعی است که وقتی کمبود CD44 وجود دارد، RHAMM در سطح بالایی تنظیم می‌شود. امروزه با ره‌یافت کندوکاو پایگاه اطلاعاتی، گیرنده‌های دیگری از جمله لایلین، گیرنده‌ی اندوتلیوم LYVE-1، و چند مورد دیگر نیز شناسایی شده‌اند.

### مشاهدات کلی هیالورونان و پوست

به‌واقع، هیالورونان در تمام بافت‌ها و مایعات بدن مهره‌داران وجود دارد، اما پوست وسیع‌ترین منبع اسید هیالورونیک است که در مجموع بیشتر از ۵۰ درصد آن را دربردارد. فرمالین یک تثبیت‌کننده‌ی آبی است، و بیشتر اسید هیالورونیک محلول در بافت با این روش خارج می‌شود. مدت زمان ماندن بافت در فرمالین متغیری است که ممکن است نتایج ناسازگاری را که اغلب رودرروی یکدیگر قرار می‌گیرند را پدید آورد. اسیدی کردن و اضافه کردن الکل به تثبیت‌کننده باعث تثبیت بیشتر اسید هیالورونیک می‌شود، به‌گونه‌ای که مرحله‌های آبی بعدی نمی‌توانند اسید هیالورونیک را شسته و از بافت خارج کنند.<sup>۱۷</sup> مقایسه‌هایی برای تعیین محل اسید هیالورونیک در قطعات پوست که با اسید فرمالین/اتانول و فرمالین مرسوم تثبیت شده‌اند انجام شده است، بیشتر اسید هیالورونیک به‌خصوص در اپی‌درم، در مرحله‌ی تثبیت با فرمالین خارج می‌شود. این پدیده در مقایسه با اسید هیالورونیک موجود در درم، بیانگر آن است که اسید هیالورونیک در اپی‌درم خیلی سست‌تر به سلول‌ها و ساختار بافت متصل است. ۲۴ ساعت انکوباسیون بیشتر در بافر آبی اختلاف بین اسید فرمالین/الکل و روش مرسوم تثبیت

سوختگی با آسیب شدید به طبقه‌ی خاردار یکی از مشکل‌های جدی بالینی است.<sup>۳</sup>

### هیالورونان درم

محتوای اسید هیالورونیک درم بسیار بیشتر از آن در اپی‌درم است، و مسئول سهم ۵۰ درصدی اسید هیالورونیک موجود در تمام بدن است. درم پاپیلاری سطح والاتری از اسید هیالورونیک را به نسبت آنچه درم رتیکولر دارد، دارا می‌باشد.

اسید هیالورونیک موجود در درم در ادامه‌ی هر دو سیستم لنفاوی و عروقی است، ولی اسید هیالورونیک موجود در اپی‌درم این‌گونه نیست. اسید هیالورونیک خارجی از درم حذف شده و به‌سرعت تجزیه می‌شود. فیبروبلاست موجود در درم یک دستگاه تولید اسید هیالورونیک درم را فراهم می‌کنند، که در واقع باید هدف تلاش‌های داروسازی برای بهبود آب‌دهی پوست و تغییرات مربوط به سن باشد. فیبروبلاست‌های بدن، پیش‌پافتاده‌ترین سلول‌ها از نظر بافت‌شناسی و احتمالاً گوناگون‌ترین سلول‌های مهره‌داران با گسترده‌ترین دفع واکنش‌های بیوشیمیایی و راه‌های مقدور برای تمایز هستند.

هنوز معلوم نیست چه چیزی فیبروبلاست‌های متورم پوستی را از دیگران متفاوت می‌کند. هر چند، این سلول‌ها ظرفیت ساخت اسید هیالورونیک را شبیه فیبروبلاست‌هایی که غشاء مفصلی را تشکیل می‌دهند و مسئول مایع غنی از اسید هیالورونیک غشاء مفصلی است دارند.<sup>۳</sup>

### تغییرات هیالورونان با افزایش سن

سطح‌های اسید هیالورونیک در جریان جنینی بالا بوده و چندی پس از تولد کاهش پیدا می‌کند. بعد از چند دهه رسیدن به یک سطح ثابت، سطح اسید هیالورونیک دوباره در سن پیری افزایش می‌یابد. در سندروم‌های پیری زودرس، در پروجریا، و در سندروم

از ۰/۵۰mM به ۱/۲۰ افزایش پیدا کند، این سلول‌ها شروع به تمایز می‌کنند، میزان اسید هیالورونیک کاهش می‌یابد، و فعالیت هیالورونیداز شروع می‌شود. این افزایش در کلسیم، که به‌نظر می‌رسد در کشت، تمایز طبیعی کراتینوسیت‌های پایه، که به موازات افزایش گرادیانته کلسیم در اپی‌درم مشاهده شده است، را تحریک می‌کند. ممکن است ذخیره‌های کلسیم داخل سلولی‌ای وجود داشته باشند که با بلوغ کراتینوسیت‌ها آزاد شوند.

ذخیره‌های کلسیم ممکن است به‌طور متناوب در خلال مراحل تمایز نهایی با جسم‌های لایه‌ای از مواد داخل سلولی آزاد شده تغلیظ شده باشد. تصور می‌شد که جسم‌های لایه‌ای لیزوزوم‌های اصلاح شده‌ی شامل آنزیم‌های هیدرولایتیک، و یک منبع بالقوه‌ی هیالورونیدازها باشند. جسم‌های لایه‌ای با غشای پلاسمایی کراتینوسیت‌های تمایز یافته‌ی نهایی ترکیب می‌شوند، تا محدوده‌ی سطح غشا را افزایش دهند. جسم لایه‌ای هم‌چنین شامل پمپ‌های پروتئینی هستند که اسیدیته را افزایش می‌دهند. جسم‌های لایه‌ای نیز اسیدی می‌شوند و لیپیدهای قطبی تا حدی به لیپیدهای طبیعی تبدیل می‌شوند، که به این وسیله در کنش حصاری پوست شرکت می‌کنند. انتشار مواد آب‌دار از اپی‌درم با لیپیدهای ساخته‌شده با کراتینوسیت‌های در طبقه‌ی خاردار سد می‌شود، مرز معادل سطحی که رنگ‌آمیزی اسید هیالورونیک خاتمه می‌یابد. این قسمتی از عملکرد حصاری پوست را تشکیل می‌دهد. ناحیه‌ی غنی از اسید هیالورونیک پایین‌تر از این لایه احتمالاً آب را از درم پرتوبت به‌دست می‌آورد. آب موجود در این لایه نمی‌تواند فراتر از طبقه‌ی خاردار نشت کند. آب متصل به اسید هیالورونیک در درم و ناحیه‌های حیاتی اپی‌درم برای آب‌دهی پوست بحرانی است. طبقه‌ی خاردار برای حفظ این آب‌دهی، نه‌تنها برای پوست بلکه برای تمام بدن، ضروری است. آب‌زدایی شدید در بیماران

ورنر نیز سطح بالارفته‌ی اسید هیالورونیک در جریان یافت می‌شود. این افزایش اسید هیالورونیک با بالارفتن سن قابل‌درک مستقیم نیست و هنوز هم ادراک نشده است. افزایش سطح اسید هیالورونیک در جریان خون، قابلیت ایمنی را کاهش می‌دهد. روش‌های مختلفی به اصرار درخواست‌شده است. یک لایه‌ی اسید هیالورونیک در اطراف لنفوسیت‌های در گردش، ممکن است مانع دسترسی لیگاندها به گیرنده‌های سطحی لنفوسیت‌ها شود. اسید هیالورونیک افزایش یافته، ممکن است بیان‌گر یکی از سازوکارهای سرکوب ایمنی در جنین باشد. پیدایش دوباره‌ی اسید هیالورونیک بالا در سنین پیری نیز ممکن است، یکی از روش‌های کاهش سیستم ایمنی در افراد مسن باشد. افزایش سطح اسید هیالورونیک با بالارفتن سن ممکن است بازتابی از زوال واکنش‌های هیدرولایتیک، شامل هیالورونیداز، که یک سطح ثابتی از اسید هیالورونیک را حفظ می‌کند، باشد. این بیشتر به‌نظر می‌آید که یک روند باشد نه لزوماً افزایش فعالیت ساخت HA. اگرچه اسید هیالورونیک درم مسئول بیشتر اسید هیالورونیک پوست است، ولی سلول‌های اپی‌درم نیز توانایی ساخت اسید هیالورونیک را دارند. کاهش مشخص اسید هیالورونیک موجود در اپی‌درم جالب‌ترین تغییر شیمیایی بافت‌شناسی مشاهده شده در پوست سالخورده است. هنوز اسید هیالورونیک در درم پوست سالخورده وجود دارد، درحالی‌که اسید هیالورونیک موجود در اپی‌درم کاملاً از بین رفته است. سهم اختصاص داده‌شده به اسید هیالورونیک در اپی‌درم ساخت کل GAG نسبت به درم بیشتر است، ولی دلیل افت بی‌مهابای آن با افزایش سن نامشخص است. ساخت اسید هیالورونیک اپی‌درم هم تحت تأثیر درم پایه و هم تیمار سطحی، مانند استفاده از اسیدهای رتینوئیک، قرار می‌گیرد که نشان می‌دهد اسید هیالورونیک اپی‌درم تحت کنترل‌های مجزایی از اسید هیالورونیک درم است. برخلاف مشاهدات قبلی

in vivo و in vitro، مطالعات اخیر تأیید کرده‌اند که مقدار کل اسید هیالورونیک در پوست با افزایش سن ثابت می‌ماند<sup>۱۵</sup>. اساسی‌ترین تغییر وابسته به سن، افزایش اشتیاق اسید هیالورونیک به ساختارهای نسج به‌همراه ازدست‌دادن قابلیت استخراج اسید هیالورونیک می‌باشد. چنین اسید هیالورونیک اضافه‌شده‌ای ممکن است توانایی‌اش برای جذب آب‌دهی کاهش یافته باشد. این کاهش حجم آب آب‌دهی اسید هیالورونیک مسلماً باعث ازدست‌دادن رطوبت پوست می‌شود. تعریف دقیق هیال‌اده‌رین‌ها، پروتئین‌های متصل به اسید هیالورونیک که اسید هیالورونیک را در پوست سالخورده می‌آرایند و مقایسه‌ی این نمایه با نمایه‌ی پوست جوان در قسمت‌های درم و اپی‌درم تحقیقی است که باید در آینده به آن پرداخته شود. کاهش فزاینده‌ی اندازه‌ی پلیمر اسید هیالورونیک در پوست به‌عنوان عملکرد سن نیز گزارش شده است. افزایش اتصال اسید هیالورونیک به بافت به‌عنوان عملکرد سن به موازات اتصال متقاطع پیش‌رونده‌ی کلاژن و ازدست‌دادن یکنواخت کلاژن قابل‌استخراج با سن است. هر کدام از این پدیده‌ها به ازدست‌دادن آشکار آب، خشک‌شدن، و کاهش کشش‌پذیری که از ویژگی‌های پوست مسن است می‌انجامد<sup>۳</sup>.

### سننژ هیالورونان

امروزه، آنزیم واحدی که توانایی سننژ اسید هیالورونیک را دارد شناسایی شده‌اند که در واقع ترنسفرهای دو سره‌ای هستند که به‌طور متناوب پیش‌ماده‌های UDP-قند، UDP-گلوکورونیک اسید و UDP-N-استیل‌گلوکوز آمین را استفاده می‌کنند<sup>۱۹</sup>. محصول سیتوپلاسمی HA، به‌وسیله‌ی یک سیستم حمل‌ونقل ABC که به پلیمر اجازه‌ی رشد آزادانه‌ای را می‌دهد، از غشای پلاسمایی به‌درون فضای خارج سلولی بیرون کشیده شده است. چنین رشدی

## هیالورونیداز

هیالورونان، با نیمه عمر ۳ تا ۵ دقیقه در جریان و کمتر از ۱ روز در پوست و حتی در یک بافت بی حرکت مانند غضروف از نظر متابولیسم بسیار فعال است، تغییر و تبدیل اسید هیالورونیک با نیمه عمر ۱ تا ۳ هفته است. این فعالیت کاتابولیک در وهله اول نتیجه هیالورونیداز (HYALs)، آنزیم‌های اندوگلیکولایتیک با اختصاص در بیشتر موارد برای باندها  $\beta$  ۱-۴ گلیکوسیدیک می‌باشد. خانواده‌ی هیالورونیداز به دلیل دشواری اندازه‌گیری فعالیت‌هایشان تا کنون، تا حدی نادیده گرفته شده‌اند و خالص‌سازی و تعیین خصوصیات آن‌ها مشکل است، در غلظت‌های فوق‌العاده کم وجود دارند و فعالیت‌های بسیار تخصصی‌ای دارند که در حین مراحل خالص‌سازی و در نبود بازدارنده‌های پروتئاز و پاک‌کننده‌ها ناپایدار است. وقتی خالص شدند، این آنزیم‌ها کاملاً پایدار به نظر می‌رسند. اینک روش‌های جدید، جداسازی و تعیین خصوصیات آن‌ها را آسان کرده است.<sup>۲۰</sup>

شش سکانس شبه هیالورونیداز در ژنوم پستانداران وجود دارد که ممکن است در نتیجه‌ی دو اتفاق کپی‌سازی، نتیجه‌ی سه ژن، در پی کپی‌سازی یکباره‌ی توده تولید شش ژن هیالورونیداز باشد. همه‌ی آن‌ها از نظر رونویسی با توزیع بافت یگانه فعال هستند. سه ژن (HYAL1, HYAL2, HYAL3) که کنار هم روی کروموزوم 3q21.3 جمع شده‌اند، در انسان کشف شده است که HYAL1, HYAL2 و HYAL3 را کد می‌کنند. سه ژن دیگر HYAL4, PHYAL, SPAM1 نیز به‌طور مشابه روی کروموزوم 7q31.3 دسته شده‌اند. آن‌ها به ترتیب برای HYAL4، یک پسودوژن رونویسی شده ولی در انسان ترجمه نشده، PH-20 و آنزیم اسپرم کد می‌شوند. آنزیم‌های HYAL1 و HYAL2 اصلی‌ترین هیالورونیداز برای تخریب اسید هیالورونیک در بافت‌های بدنی را تشکیل می‌دهند.

نمی‌تواند بدون تخریب سلول در گلژی یا شبکه‌های اندوپلاسم که بیشتر پلیمرهای قندی ساخته می‌شوند اتفاق افتد. سه ژن سنتزکننده‌ی اسید هیالورونیک در ژنوم پستانداران وجود دارند که HAS-1, HAS2, HAS3 را کد می‌کنند. این ژن‌ها به‌صورت مجزا تنظیم می‌شوند، و هر کدام پلیمری با اندازه‌ی متفاوت تولید می‌کنند. داده‌های سکانس ایزوفرم‌های HAS چنین مطرح می‌کنند که آن‌ها هفت منطقه‌ی غشادار و یک حیطه‌ی مرکزی سیتوپلاسمی دارای چندین سکانس حفظ‌شده که پیش‌ماده‌ی فسفوریله‌شدن به‌وسیله‌ی پروتئین‌کینازها می‌باشند، را دربردارند. پروتئین‌های سیستم نقل‌وانتقال ABC که برای انتقال اسید هیالورونیک از غشای پلاسمایی روی ناحیه‌ی کروموزوم لازم هستند بلافاصله بعد از ژن‌های سازنده اسید هیالورونیک کد شده‌اند. بیان ژن‌های HAS-1 و HAS-2 در شرایط طبیعی پوست، با TGF- $\beta$  در درم و اپی‌درم افزایش می‌یابد، اما تفاوت‌های اساسی در جنبش‌های پاسخ TGF- $\beta$  بین HAS-1 و HAS-2 بین دو قطعه، وجود دارد که نتیجه می‌گیرد که دو ژن، به‌صورت مستقل تنظیم می‌شوند. هم‌چنین این نتیجه را می‌گیرد که اسید هیالورونیک عملکردهای متفاوتی در درم و اپی‌درم دارد.

تحریک سنتز اسید هیالورونیک نیز بعد از تیمار با فربول استر (PMA) و PDGF اتفاق می‌افتد، اگرچه اثر مستقیم بر روی HAS هنوز مشاهده نشده است. گلوکوکورتیکوئید تقریباً تمام بازدارنده‌های mRNA مربوط به HAS را در فیبروبلاست‌های درم تحریک می‌کند. عصاره‌های فیبروبلاست‌های پوستی نشان داد که HAS-2 غالب‌ترین سازنده‌ی اسید هیالورونیک در آن است. این ممکن اساس مولکولی کاهش اسید هیالورونیک در پوست تیمار شده با گلوکوکورتیکوئید باشد. اگرچه، اثر مضاعف بر روی سرعت تجزیه‌ی اسید هیالورونیک هنوز آزمایش نشده است.<sup>۲۱</sup>

مشابهی دارند و تفاوت در محصول‌های واکنش آن‌ها نیاز به توضیح دارد. همان‌طور که با طیف‌نمای (اسپکتروسکوپی) NMR مشخص شده، ویژگی‌های زیستی اسید هیالورونیک در محلول‌های آبی با ساختارهای سومین برگشت‌پذیر کنترل می‌شود.<sup>۳</sup>

### تخریب غیرآنزیمی

پلیمر اسید هیالورونیک می‌تواند به‌طور غیرآنزیمی به‌وسیله‌ی رادیکال‌های آزاد، به‌ویژه در حضور مواد کاهنده (مانند تیول، آسکوربیک‌اسید، فلزات آهن‌دار، یون‌های مس) تخریب شود. این روش جلوگیری از دی‌پلیمریزه‌شدن نیازمند دخالت مولکول‌های اکسیژن است. مصرف عوامل کاهنده در تدارک‌های دارویی برای به عقب انداختن رادیکال‌های آزاد قسمت‌هایی از زنجیره‌ی اسید هیالورونیک مجاز است. این موارد البته برای درک سازوکار پیری پوست کاربرد اساسی دارند.<sup>۳</sup>

### گوشه‌ای از متابولیسم اسید هیالورونیک

به‌خوبی ثابت شده است که اسید هیالورونیک از طریق گیرنده‌ی CD44 به‌وسیله‌ی سلول‌ها برای تخریب جذب می‌شود. پلیمر خارج سلولی با وزن مولکولی بالا با اثر مشترک CD44 و آنزیم HYAL2 متصل به GPI، به سطح سلول مهار شده است. مجموعه‌ی HA-CD44-HYAL2 در میکرودومین‌های خاصی غنی شده‌اند. این‌ها درون‌هم‌رفتگی‌های غشای پلاسمایی رفت‌های لپیدی نامیده می‌شوند، و به این دلیل مهم هستند که تعداد زیادی از مولکول‌های علامت‌دهنده‌ی کلیدی را هم به خدمت می‌گیرند.<sup>۳</sup>

### References

1. Laurent UB, Dahl LB, Reed RK. Catabolism of hyaluronan in rabbit skin takes place locally, in lymph nodes and liver. *Exp Physiol* 1991; 76: 695-703.
2. Reed RK, Lilja K, Laurent TC. Hyaluronan in the rat with special reference to the skin. *Acta Physiol Scand* 1988; 134: 405-11.

ژن HYAL1، یک آنزیم لیزوزومی فعال با اسید اولین هیالورونیداز بدنی بود که جدا شد و تعیین خصوصیت گردید. این یک گلیکوپروتئین پلی‌پپتید تکی ۵۷ kDa است که به شکل فراورده‌ی ۴۵ kDa، نتیجه دو واکنش لندوپروتئاز، نیز اتفاق می‌افتد. دو زنجیره‌ی حاصل با پیوندهای دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند. از آن‌جایی که دو ایزوفرم فعالیت خاص یکسانی دارند، این یک رابطه‌ی آنزیمی فعال زایموزنی نیست. البته، فقط شکل بزرگ‌تر در گردش وجود دارد، درحالی‌که هر دو ایزوفرم در ادرار، عصاره‌ی بافت و در سلول‌های کشت‌شده وجود دارند.

دلیل این‌که چرا هیالورونیداز فعال با اسید باید در پلازما وجود داشته باشد مشخص نیست. برخی از گونه‌ها فعالیت آنزیمی قابل‌تشخیصی در گردش خونشان ندارند، اما شکل پیش‌ماده‌ی غیر فعال ۷۰ kDa قابل‌تشخیص با وسترن‌بلات در چنین سرم‌هایی وجود دارد. پروتئین HYAL1 توانایی استفاده از هر اندازه از اسید هیالورونیک را به‌عنوان پیش‌ماده در تولید عمده‌ی تتراساکاریدها دارد. نیز ممکن است HYAL2 اسید فعال قلاب‌شده به غشای پلاسمایی با پیوند GPI باشد. پروتئین HYAL2 به‌صورت فرآورده‌ی حلال نیز پدید می‌آید.

تفاوت بین عملکرد این دو ایزوفرم هم تاکنون شناخته نشده است. ژن HYAL2، اسیدهیالورونیک با وزن مولکولی بالا را به محصولی در حد تقریباً ۲۰ kDa، یا تقریباً ۵۰ واحد دی‌ساکاریدی می‌شکند، درحالی‌که HYAL1 توانایی هضم پلیمر با وزن مولکولی بالا به محصول هضمی محدود که غالباً شامل تتراساکارید هستند را دارد. ژن‌های HYAL1 و HYAL2 ساختار

3. Farage MA, Miller KW, Maibach HI (eds). Textbook of aging skin. Berlin: Springer; 2010.
4. Meyer KPJ. The polysaccharide of the vitreous humor. *J Biol Chem* 1934;107: 629-34.
5. Lee JY, Spicer AP. Hyaluronan: a multifunctional, megaDalton, stealth molecule. *Curr Opin Cell Biol*. 2000; 12: 581-6.
6. Toole BP. Hyaluronan is not just “a goo!”. *J Clin Invest* 2000;106: 335-6.
7. Evanko SP, Wight TN. Intracellular localization of hyaluronan in proliferating cells. *J Histochem Cytochem* 1999; 47: 1331-42.
8. Locci P, Marinucci L, Lilli C, et al. Transforming growth factor beta 1-hyaluronic acid interaction. *Cell Tissue Res* 1995; 281: 317-24.
9. Kumar S, West DC. Psoriasis, angiogenesis and hyaluronic acid. *Lab Invest* 1990; 62: 664-5.
10. Engstrom-Laurent A, Hellstrom S. The role of liver and kidneys in the removal of circulating hyaluronan. An experimental study in the rat. *Connect Tissue Res*. 1990; 24: 219-24.
11. Stern R, Assari AA, Sugahara KN, Size- specific fragments of hyaluronan: an information rich system. *Eur J Cell Biol* 2006; 85: 699-715.
12. Day AJ, Prestwich GD. Hyaluronan-binding proteins: tying up the giant. *J Biol Chem*. 2002; 277: 4585-8.
13. Lesley J, Hascall VC, Tammi M, Hyman R. Hyaluronan binding by cell surface CD44. *J Biol Chem* 2000; 275: 26967-75.
14. Cheung WF, Cruz TF, Turley EA. Receptor for hyaluronan-mediated motility (RHAMM), a hyaladherin that regulates cell responses to growth factors. *Biochem Soc Trans [Review]* 1999; 27: 135-42.
15. Meyer LJ, Stern R. Age-dependent changes of hyaluronan in human skin. *J Invest Dermatol* 1994; 102: 385-9.
16. Nedvetzki S, Gonen E, Assayag N, et al. RHAMM, a receptor for hyaluronan-mediated motility, compensates for CD44 in inflamed CD44-knockout mice: a different interpretation of redundancy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 18081-6.
17. Lin W, Shuster S, Maibach HI, Stern R. Patterns of hyaluronan staining are modified by fixation techniques. *J Histochem Cytochem* 1997; 45: 1157-63.
18. Passi A, Sadeghi P, Kawamura H, et al. Hyaluronan suppresses epidermal differentiation in organotypic cultures of rat keratinocytes. *Exp Cell Res* 2004; 296: 123-34.
19. Weigel PH, Hascall VC, Tammi M. Hyaluronan synthases. *J Biol Chem* 1997; 272: 13997-4000.
20. Stern R, Jedrzejewski MG. The hyaluronidases; their genomics, structures, and mechanisms of action. *Chem Rev* 2006; 106: 818-39.

## Hyaluronic acid and skin aging

Mona Malekmohammadi, MSc<sup>1</sup>  
Hossein A. Tehrani, PhD<sup>1</sup>  
Nasser Aghdami, MD, PhD<sup>2</sup>

1. Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Tarbiat-Modarres University, Tehran, Iran.
2. Department of Stem Cells, Rooyan Research Inst, Tehran, Iran.

Hyaluronic acid (HA), the main and most important constituent of extracellular matrix, is a glycosaminoglycan with water-absorbing capacity found in large amount in growing and repairing tissues. One of the main causes of skin problems, particularly in aging skin, is HA deficiency. More than half of the body HA is in the skin and is necessary for the maintenance of internal matrix and several cellular functions. Filler gels containing HA are used to repair skin defects. As these substances are derived from animals and bacteria, not the human, may cause skin reactions and have short half-life. So efforts to maintain and/or increase HA secretion from skin fibroblasts are important in the prevention and treatment of skin aging.

**Keywords:** extracellular matrix, fibroblast, skin aging, fillers

Received: Nov 15, 2011      Accepted: Dec 9, 2011

Dermatology and Cosmetic 2011; 2 (3): 184-187

**Corresponding Author:**

Mona Malekmohammadi, MSc  
Faculty of Medicine, Tarbiat Modares  
University, Jalale Ali-e- Ahmad Avenue,  
Tehran, Iran. P.O.Box 14115-331

Email: monamalek.m@gmail.com

**Conflict of interest:** None to declare