

مروری بر هیالورونیک اسید

دکتر آرزو روستایی

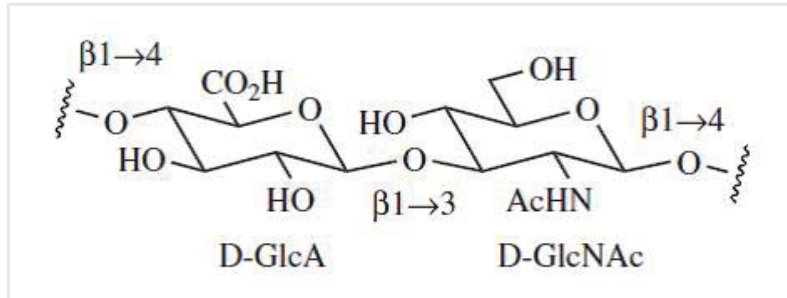
گروه فارماکوتوزی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

■ مقدمه

در سال ۱۹۳۴ کارل مایر و جان پالمر ماده شیمیایی ناشناخته‌ای از زجاجیه چشم گاو جدا کردند. آن‌ها دریافتند که این ماده حاوی دو مولکول قند است که یکی از آن‌ها اورونیک اسید [شکل اسیدی قندها که در آن گروه هیدروکسی کربن انتهایی قند به عامل کربوکسیلیک اکسیده شده] است. آن‌ها این ماده را هیالورونیک اسید (Hyaluronic acid) نامیدند که از «hyalos» (واژه یونانی برای شیشه) و اورونیک اسید مشتق شده بود. واژه «هیالورونان» در ۱۹۸۶ و در راستای پیروی از اصول بین‌المللی نام‌گذاری پلی‌ساکاریدها پیشنهاد شد و به تمام اشکال مولکول اعم از فرم اسید یا نمک آن اطلاق می‌شود.

■ ساختمان و بیوستنز

هیالورونان یک گلیکوزآمینوگلیکان Glycosaminoglycan (یا موکوپلی ساکارید) است که به‌طور طبیعی در تمامی موجودات زنده یافت می‌شود. گلیکوزآمینوگلیکان‌ها، پلی‌ساکاریدهای اسیدی طویل و بدون شاخه جانبی هستند که از واحدهای تکرارشونده دی‌ساکاریدی تشکیل شده‌اند. این واحد دی‌ساکاریدی متشکل از یک قند آمینه (N-استیل گلوکزآمین یا N-استیل گالاکتوزآمین) و یک قند اورونیک (گلوکورونیک اسید یا ایدورونیک اسید) یا گالاکتوز است. از گلیکوزآمینوگلیکان‌های مهم می‌توان به کراتان سولفات، کندروئیتین سولفات، درماتان سولفات، هپاران سولفات و هپارین اشاره کرد. هیالورونان



محلولی ویسکوز ایجاد کند. در محلول‌های غلیظ، شبکه‌ای یکپارچه ولی متخلخل ایجاد کرده و به شکل یک ژل هیدراته درمی‌آید. وقتی فشار خارجی به این شبکه اعمال می‌شود منقبض شده، و با برداشت فشار به حالت اولیه خود برگشته و یا شکلی جدید که مطابق با محدودیت‌ها و مرزهای جدید باشد. این ویژگی حالت انعطاف‌پذیری و ارتجاعی به بسیاری از بافت‌ها می‌دهد. مناطق غنی از هیالورونان در بافت‌های در حال نمو، فشار داخلی اعمال کرده که موجب انفصال ساختارهای فیزیکی و ایجاد «بزرگراه‌هایی» برای مهاجرت سلولی می‌شود. همچنین، تغییرات شکل سلول را که برای تحرک و تقسیم سلولی لازم است با ایجاد ناحیه هیدراته در اطراف سلول تسهیل می‌نماید. هیالورونان (در شکل نمک خود) در ماتریکس خارج سلولی تمام بافت‌ها یافت می‌شود. مقدار زیادی از هیالورونان در پوست، ریه، کلیه، مغز، سیستم لنفاتیکی و بافت‌های عضلانی وجود دارد. Wharton jelly در بند ناف، ژلی بر پایه هیالورونات است. زجاجیه چشم ژلی از سدیم هیالورونات با شبکه‌ای پراکنده از فیبریل‌های کلاژن نوع II است. مایع سینوویال لوبریکانتی حاوی

از گلوکورونیک اسید و N-استیل گلوکزآمین تشکیل شده، و با دارا بودن ۲۰۰۰-۳۰۰۰ واحد دی‌ساکارییدی بزرگ‌ترین گلیکوزآمینوگلیکان در طبیعت است.

هیالورونان توسط یکی از سه آنزیم ترانس ممبران هیالورونان سنتاز HAS1، HAS2 و HAS3 ساخته می‌شود. این سه آنزیم در فعالیت کاتالیتیک خود و طول هیالورونان سنتز شده متفاوت هستند. بخش فعال آنزیم‌ها رو به سمت داخلی غشای سلول بوده و هم‌زمان با سنتز، ماکرومولکول به سطح سلول یا ماتریکس خارج سلولی ترشح می‌شود.

نیمه عمر هیالورونان در بافت‌های مختلف متفاوت است. برای مثال، نیمه عمر آن در خون ۳ تا ۵ دقیقه، در پوست کمتر از ۱ روز و در غضروف ۱ تا ۳ هفته است. تجزیه هیالورونان توسط مجموعه آنزیم‌هایی که هیالورونیداز نامیده می‌شوند، صورت می‌گیرد.

■ خصوصیات و مکانیسم عمل

ویژگی‌های ساختاری هیالورونان موجب می‌شود تا در محلول‌های رقیق منبسط شده و حجم زیادی اشغال کند، آب را درون ساختار خود محبوس و

سیتوکین‌ها و کموکین‌ها را سرعت بخشیده و قطعات حاصل از تجزیه و تخریب هیالورونان، خود در نقش محرک آنژیوژنز و رشد تومور عمل می‌کنند. طبق نتایج چندین مطالعه، نوعی از هیالورونان که در تحریک رشد تومور و فرآیندهای التهابی دخیل است، شکل با وزن مولکولی پایین (LMW HA [Low Molecular Weight Hyaluronic Acid]) است و نه نوع با وزن مولکولی بالا (HMW HA) و حتی برخی مطالعه‌ها اثرهای مهارى تومور از HMW HA نشان داده‌اند.

هیالورونان نقش مهمی در بهبود زخم‌های جنینی بدون ایجاد جای زخم (اسکار) دارد. در فرآیند بهبود زخم در بالغان، هیالورونان ابتدا افزایش می‌یابد و سپس سطح آن به میزان قابل توجهی افت می‌کند، ولی در جنین تا ترمیم کامل بدون ایجاد جای زخم، غلظت آن بالا باقی می‌ماند.

■ منابع و روش‌های تولید

علی‌رغم ساختار ظاهراً ساده، این ماکرومولکول خواص رئولوژیک غیرمعمول نشان می‌دهد و شدیداً هیدروفیل و لیز است. به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی جالب توجه و نیز زیست‌سازگاری، غیر ایمونوژن و غیر آنتی‌ژنیک بودن، مورد استفاده‌های متعددی قرار گرفته است. اولین کاربرد دارویی از هیالورونان در انسان در اواخر دهه ۱۹۵۰ بود که در حین جراحی چشم به‌عنوان جایگزین زجاجیه استفاده شد. هیالورونان استفاده شده، ابتدا از بند ناف جنین انسان استخراج شده بود، اما اندکی بعد از آن، از تاج خروس در شکل بسیار خالص و با وزن مولکولی بالا استخراج شد. اما استفاده

۰/۳ درصد هیالورونان همراه با یک گلیکوپروتئین است. در غضروف تعداد زیادی از پروتئوگلیکان اصلی غضروف یعنی aggrecan از ناحیه N-terminal خود با اتصالات غیر کووالان با یک ماکرومولکول هیالورونان پیوند می‌خورند. علاوه بر این، هیالورونان در بافت‌های اپی‌تلیال و عصبی نیز وجود دارد.

هیالورونان، از طریق برهم‌کنش‌های اختصاصی و غیراختصاصی با سلول‌ها، نقش‌های مهمی در ماتریکس خارج سلولی ایفا می‌کند. با چندین پروتئین که hyaladherins نامیده می‌شوند، برهم‌کنش دارد که تعدادی از آن‌ها گیرنده‌های سطحی سلول‌ها هستند. از میان مهم‌ترین این گیرنده‌ها می‌توان به CD44 و RHAAM اشاره کرد. مسیر انتقال سیگنال از طریق این دو گیرنده بر تکثیر، بقا و تحرک سلولی مؤثر بوده و هم‌چنین با سرطان در ارتباط است. برخی انواع سلول‌های توموری مقادیر بسیار زیادی هیالورونان تولید می‌کنند یا با آزادسازی فاکتورهای رشد و سیتوکین‌ها تولید آن را تحریک می‌کنند. تجمع هیالورونان در پارانشیم تومور و بافت‌های استروما در اطراف تومور، در متاستاز دخیل است. در بیماران مبتلا به سرطان معمولاً غلظت هیالورونان در تومورهای بدخیم در مقایسه با انواع خوش‌خیم و بافت‌های طبیعی بالاتر است و بدین ترتیب در برخی انواع تومورها میزان هیالورونان پیش‌بینی‌کننده بدخیمی است. هیالورونان با ایجاد پوشش اطراف سلولی، می‌تواند از سلول‌های سرطانی در برابر حمله سیستم ایمنی محافظت کند. علاوه بر این، نواحی غنی از هیالورونان در اطراف تومور، هجوم سلول‌های التهابی و تولید

■ کاربردها

از زمان کشف تا کنون، هیالورونان کاربردهای متعددی پیدا کرده و هم‌چنان زمینه‌های کاربری آن رو به افزایش است. از جمله آن‌ها می‌توان به جراحی‌های چشم، درمان آسیب‌های تارهای صوتی، آرتريت، پُرکننده پوست، پانسمان‌های زخم از جمله در سوختگی‌ها و زخم‌های دیابتی، مهندسی بافت و سیستم‌های دارورسانی اشاره کرد.

✦ **حنجره:** پوشش اطراف تارهای صوتی را به‌طور عمده ماتریکس خارج سلولی، شامل چندین پروتئوگلیکان و نیز گلیکوزآمینوگلیکان هیالورونان تشکیل داده است. علاوه بر اهمیتی که هیالورونان در حفظ مجموعه ماتریکس خارج سلولی در اطراف تارهای صوتی دارد، به‌نظر می‌رسد خود در تأمین الاستیسیته در جهت بهینه‌سازی فرکانس صدا نقش دارد. به‌علاوه، CD44، گیرنده هیالورونان در اپیتلیوم تارهای صوتی متمرکز است و بنابراین، این ماکرومولکول در نگهداری و بلوغ بافت همبند زیر اپیتلیوم در پاسخ به استرس تارهای صوتی مؤثر است. در مطالعه‌هایی نشان داده شده تزریق موضعی هیالورونان یا برخی از انواع cross-linked آن [در اشکال cross-linked هیالورونان، تعدادی از این پلیمر توسط پیوندهایی به هم اتصال داده شده‌اند و مقاومت بیشتری در برابر تجزیه آنزیمی حاصل شده، و در نتیجه نیمه عمر بالاتری در مقایسه با هیالورونان دارند] در بهبود آسیب‌های حاد و تازه و حتی مزمن و قدیمی تارهای صوتی مؤثر است.

✦ **پوست:** میزان هیالورونان در پوست تقریباً ۵۰ درصد کل هیالورونان موجود در بدن است.

از این منبع با نگرانی‌های مربوط به به‌کارگیری ترکیب‌های مشتق شده از منابع حیوانی در کاربردهای دارویی و پزشکی مواجه شد و از این رو، تخمیر میکروبی به‌عنوان راهی جایگزین برای تولید هیالورونان ظهور کرد که در این روش عمدتاً از *Streptococcus zooepidemicus* استفاده می‌شود. با این حال، وجود اندوتوکسین‌های باکتریایی در هیالورونان حاصل از تخمیر استرپتوکوکی، می‌تواند کاربرد آن را در حیطه پزشکی محدود کند. بنابراین، تولید هیالورونان نوترکیب به‌عنوان راهی جایگزین مطرح شده است. از باکتری‌های میزبان در این روش می‌توان به *Bacillus sp.*، *Lactococcus*، *Escherichia coli* و *lactis. Agrobacterium sp.* اشاره کرد.

وزن مولکولی پارامتر کیفی مهمی در محصولات تجاری هیالورونان است، چرا که تعیین‌کننده خواص رئولوژیک آن است، روی پاسخ فیزیولوژیک تأثیر گذاشته و کاربرد مناسب آن را مشخص می‌کند. هیالورونان با وزن مولکولی بالا ویسکوالاستیسیته، قدرت حفظ رطوبت و مخاط چسبی خوبی دارد، ویژگی‌هایی که در زمینه‌های چشم‌پزشکی، ارتوپدی، ترمیم زخم و آرایشی مورد نیاز است. در حالی که انواع با وزن پایین (۳-۵kDa) یا هیالورونان اولیگوساکاریدها محرک آنژیوژنز، القاکننده بیان واسطه‌های التهابی و غیره هستند. شرایط محیط کشت میکروبی و نیز توازن میان سرعت سنتز مولکول و سرعت فرآهم‌آوری قندهای پیش‌ساز، تعیین‌کننده وزن مولکولی محصول است.

شبکیه پس از کنده شدن، رفع چسبندگی قدامی و به‌عنوان وسیله مکانیکی برای جدا نگهداشتن بافت‌ها و چسبندگی‌ها به کار برود. هیالورونان در قطره‌های اشک مصنوعی جهت درمان خشکی چشم نیز استفاده می‌شود.

✧ **قلب و عروق:** در ارتباط با ویژگی ضدچسبندگی هیالورونان، در مطالعه‌های متعددی اثربخشی هیالورونان در افزایش سازگاری خونی با ایمپلنت‌های قلبی عروقی مانند استنت‌ها و پیوندهای عروقی نشان داده شده است. به‌عنوان مثال، کاهش چسبندگی پلاکتی و تشکیل ترومبوز با بیومتریال‌هایی که در سطحشان هیالورونان cross-linked به کار رفته مشاهده شده است.

✧ **مفاصل:** مایع مفصلی دیالیزی از پلاسما است که با ترکیب‌هایی که از بافت‌های مفصل ترشح می‌شود، تغییراتی پیدا کرده است. تفاوت عمده مایع مفصلی با سایر مایعات مشتق شده از پلاسما، در میزان بالای هیالورونان آن است که از سلول‌های پوشاننده غشای سینوویال و فیبروبلاست‌های زیر آن به داخل مایع مفصلی ترشح می‌شود. مایع مفصلی دو نقش اصلی بر عهده دارد: عمل کردن به‌عنوان محیطی برای انتقال مواد غذایی از جمله گلوکز به غضروف مفصلی و کمک به عملکرد مکانیکی مفصل از طریق لوبریکاسیون سطوح مفصلی. در سال‌های اخیر Viscosupplementation یا تزریق هیالورونان به حفره مفصلی به‌عنوان راهی برای درمان بیماران مبتلا به آرتروز مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعه‌های *in vitro* نشان داده شده وقتی کندروسیت‌های مفصل در حضور هیالورونان

مقدار هیالورونان در درم (dermis) بیشتر از اپی‌درم است. این ماکرومولکول در درم تعادل آب، فشار اسمزی و جریان یون‌ها را تنظیم می‌کند، مانند یک غربال عمل کرده و مولکول‌های خاصی را بیرون نگه می‌دارد و با برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک ساختارهای پوست را پایدار می‌کند. با پیر شدن پوست، هیالورونان در اپی‌درم ناپدید می‌شود و هم‌چنین به تدریج اندازه این پلیمر در پوست کاهش می‌یابد. با توجه به نیمه عمر کم هیالورونان در پوست، تزریق هیالورونان به‌عنوان «filler» اثر طولانی مدتی نخواهد داشت. بنابراین، از فرآورده‌های stabilized (یا cross-linked) که اثر طولانی‌تری ایجاد می‌کنند، استفاده می‌شود.

✧ **چشم:** هیالورونان در زجاجیه، غده‌های اشکی، ملتحمه، اپی‌تلیوم قرنیه و نیز اشک یافت می‌شود. مهاجرت سلول‌های اپی‌تلیال قرنیه که در بهبود زخم‌های قرنیه ضروری است، تحت تحریک هیالورونان صورت می‌گیرد. به‌علاوه، هیالورونان با مهار رادیکال‌های آزاد نقش محافظتی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو به سلول‌ها دارا است. هیالورونان با افزایش نگه داشتن آب در سطح قرنیه، ترشوندگی آن را افزایش داده و بدین ترتیب در درمان خشکی چشم مفید است. محلول‌های سدیم هیالورونات به وفور در اعمال جراحی چشم مورد استفاده قرار می‌گیرند. جایگزین زجاجیه بوده، اندوتلیوم قرنیه را در برابر ترومای مکانیکی حین جراحی آب مروارید محافظت می‌کند، پیش از بخیه زدن پیوند در عمل پیوند قرنیه روی عدسی و عنبیه پخش می‌شود تا شفافیت بیشتری در پیوند ایجاد شود. ضمناً می‌تواند در باز کردن و جابه‌جا کردن

آن‌ها با فرآورده‌های cross-linked بیشتر است. دستورالعمل منتشر شده در سال ۲۰۱۳ از سوی American Association of Orthopaedic Surgeons، هیالورونان را برای بیماران مبتلا به اوستئوآرتریت زانو توصیه نمی‌کند، چرا که کارایی آن را کافی نمی‌داند. در این دستورالعمل آمده اگرچه در بررسی‌های جامع‌نگر امتیاز مقیاس‌های درد، کارکرد و سفتی مفصل به لحاظ آماری اثرهای درمانی قابل توجهی را نشان می‌دهد اما پیشرفت در هیچ یک از این‌ها به آستانه حداقلی بهبود که از لحاظ بالینی مهم باشد، نرسیده است. طبق آنالیزهای این انجمن، در اغلب مطالعه‌هایی که نتایج قابل توجهی به لحاظ آماری نشان داده بودند از هیالورونان HMW و cross-linked استفاده شده است.

با توجه به وجود مقاله‌هایی که ادعاهای متناقضی در رابطه با کارایی و اثربخشی تزریق هیالورونان داخل زانو دارند، انجام مطالعه‌های بیشتری در راستای تأیید یا رد به کارگیری آن ضروری به نظر می‌رسد.

کشت داده می‌شوند، سرعت بالاتری در تکثیر DNA و در تولید ماتریکس خارج سلولی داشته‌اند. ضمناً تخریب غضروف به واسطه نوتروفیل‌ها در حضور هیالورونان مهار شده است. به علاوه، کاهش آسیب‌های مفصلی در مدل‌های حیوانی اوستئوآرتریت متعاقب تزریق داخل مفصلی هیالورونان در آزمون‌های متعددی نشان داده شده است. تاکنون مطالعه‌های متعددی در راستای ارزیابی اثربخشی تزریق هیالورونان در مفصل زانو در بیماران مبتلا به اوستئوآرتریت و روماتوئید آرتریت انجام گرفته است و نتایج این ارزیابی‌های بالینی گاهی ضد و نقیض است که بخشی از این تناقض ممکن است ناشی از استفاده از شکل‌های مختلف این ماکرومولکول باشد. عوارض تزریق هیالورونان داخل مفصل معمولاً ناچیز است. درد محل تزریق، سفتی مفصل و التهاب در چند روز اول پس از تزریق گزارش شده است که با استعمال کمپرس یخ، مصرف NSAIDs و استراحت مرتفع می‌گردد. عوارض شدیدتر (واکنش pseudoseptic، گرانولوماتوز و نقرس کاذب) شایع نبوده ولی خطر وقوع

منابع

1. Bhadra AK, Altman R, Dasa V, Myrick K. Appropriate Use Criteria for Hyaluronic Acid in the Treatment of Knee Osteoarthritis in the United States. *Cartilage* 2016; 8(3): 234-254.
2. Boeriu CG, Springer J, Kooy FK, Van den Broek LA, Eggink G. Production methods for hyaluronan. *Int J Carbo Chem* 2013; 2(3): 1-14.
3. Brown GA. AAOS Clinical Practice Guideline: Treatment of Osteoarthritis of the Knee: Evidence-Based Guideline. *J Am Acad Orthop Surg* 2013; 21(9): 577-579.
4. Chhetri DK, Mendelsohn AH. Hyaluronic acid for the treatment of vocal fold scars. *Cur Opin Otolaryngo Head Neck Surg* 2010 18(6): 498-502.
5. Jørgensen A, Stengaard-Pedersen K, Simonsen O. Intra-articular hyaluronan is without clinical effect in knee osteoarthritis: a multicentre, randomised, placebo-controlled, double-blind study of 337 patients followed for 1 year. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(6): 1097-1102.
6. Liu L, Liu Y, Li J, Du G, Chen J. Microbial production of hyaluronic acid: current state,

ادامه منابع

challenges, and perspectives. *Microbial cell Factor* 2011; 10(1): 99.

7. Meisenberg G. Simmons WH. *Principles of medical biochemistry*. Elsevier Health Sciences; 2016 Sep 28.

8. Misra S. Hascall VC. Markwald RR. Ghatak S. Interactions between hyaluronan and its receptors (CD44, RHAMM) regulate the activities of inflammation and cancer. *Front Immunol* 2015; 6: 201.

9. Neustadt D. Caldwell J. Bell M. Wade J. Gimbel J. Clinical effects of intraarticular injection of high molecular weight hyaluronan (Orthovisc) in osteoarthritis of the knee: a randomized, controlled, multicenter trial. *J Rheumatol* 2005; 32(10): 1928-1936.

10. Nobile V. Buonocore D. Michelotti A. Marzatico F. Anti-aging and filling efficacy of six types hyaluronic acid based dermo-cosmetic treatment: double blind, randomized clinical trial of efficacy and safety. *J Cosmetic Dermatol* 2014; 13(4): 277-287.

11. Papakonstantinou E. Roth M. Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermato-endocrinology* 2012; 4(3): 253-258.

12. Rah MJ. A review of hyaluronan and its ophthalmic applications. *Opto J Am Opto Assoc* 2011; 82(1): 38-43.

13. Toole BP. Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue. *Nature Rev Cancer* 2004; 4(7): 528-539.

