

بررسی تغییرات ترکیبات قندی سطح سلول و ماده خارج سلولی در روند تکامل عدسی

چکیده

تکامل عدسی از اکتودرم سطحی مجاور حباب بینایی محتاج میان کنشهای پیچیده و منظمی بین اکتودرم سطحی ناحیه کرانیال جنین، نورواکتودرم پروزنسفالون و مزانشیم مابین آنها است. ترکیبات قندی سطح سلول (گلیکوکنژوگه‌ها) و ماتریکس خارج سلولی نقش بسیار با اهمیتی در هدایت وقایع مورفوژنز تشکیل عدسی دارند. بمنظور بررسی توزیع طبیعی ترکیبات قندی سطح سلول و اجزای ماتریکس خارج سلولی، ۲۰ سر موش از نژاد Whistar انتخاب شدند و پلاگ واژینال بعنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد. موشهای حامله بر اساس روز حاملگی از روز یازدهم تا بیستم جنینی تحت بیهوشی عمیق باز شدند و جنینها در محلول B4G، کارنوی و بوئن ثابت (fix) شدند. مقاطع برش به ضخامت ۶-۵ میکرومتر تحت رنگ آمیزیهای H&E، PH=۲/۵، PAS/Alcian Blue، Trichrome و لکتینهای PNA و BSA1-B4 و S/PNA قرار گرفتند. لکتین PNA و BSA1-B4 بترتیب وجود قندهای انتهایی Gal/GalNac و D-Gal را در استرومای عدسی مشخص نمودند. کاربرد آنزیم سیالیداز تغییری در میزان واکنش عدسی به لکتین PNA را بدنبال نداشت. همچنین وجود ترکیبات اسیدوفیل در استرومای عدسی و ترکیبات قندی خنثی در کپسول عدسی پس از تشکیل حباب عدسی نشان داده شد. بنظر می‌رسد ترکیبات قندی سطح سلول و ماتریکس خارج سلول همپای مورفوژنز تغییر می‌کنند و زمینه ساز تحولات تکاملی در آن هستند.

کلید واژه‌ها: ۱- عدسی ۲- لکتین ۳- ماتریکس خارج سلولی
۴- قند ۵- گلیکوکنژوگه

*دکتر محمدرضا عرب I

دکتر طاهره طلایی خوزانی II

دکتر علیرضا فاضل III

مقدمه

سلول - سلول (cell-cell) و سلول - ماده خارج سلولی (Cell- Extracellular matrix interaction) دخالت دارند (۱ و ۲). میزان پیچیدگی این ترکیبات قندی در سطح سلولهای مختلف و در مراحل مختلف تکامل سلولی متفاوت است (۳ و ۴).

این ترکیبات در حرکات مورفوژنیک سلولی، مهاجرت‌های سلولی و اتصالات سلولی اهمیت دارند. از آنجا که در

ترکیبات قندی سطح سلولها (گلیکوکنژوگه‌ها) ترکیباتی از دسته گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها هستند که بخش پروتئینی آنها در غشاء سلول قرار می‌گیرد، در حالیکه بخش قندی آنها در خارج سلول تشکیل گلیکوکالیکس یا پوشش سلولی (CellCoat) را می‌دهد که بعنوان آنتنهای سلولی عمل می‌کنند و در تشخیص سلولها از هم (cell-cell recognition) و میان کنشهای

این مقاله خلاصه‌ایست از پایان نامه دکتر محمدرضا عرب جهت دریافت درجه دکترای تخصصی در رشته علوم تشریحی به راهنمایی دکتر علیرضا فاضل، ۱۳۷۸؛ همچنین این پژوهش تحت حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده است.

(I) استادیار گروه تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی زاهدان، زاهدان (*مؤلف مسؤول)

(II) استادیار گروه تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شیراز، شیراز.

(III) دانشیار گروه تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی مشهد، مشهد.

لذا این تحقیق با هدف شناسایی قندهای انتهایی (گلیکوکونژوگه‌های) سطح سلول و تغییرات آن طی تکامل عدسی انجام شد (۷، ۸، ۱۱، ۱۵ و ۱۸). بدون شک اینگونه مطالعات راه را برای درک پاتوژنز بیماریهای چشمی نظیر آب مروارید مادرزادی (congenital cataract) و نیز دیگر بیماریها هموار خواهد کرد.

مواد و روشها

تعداد ۲۰ سر موش باکره از نژاد Whistar انتخاب شدند. پس از جفت گیری، مشاهده واژینال پلاگ بعنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد.

موشها در شرایط استاندارد از نظر دسترسی به آب و مواد غذایی، نور (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی)، میزان رطوبت (۵۵-۵۰ درصد) و درجه حرارت (۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند.

موشهای حامله بر اساس روز حاملگی (از روز یازدهم تا بیستم جنینی)، تحت بیهوشی عمیق با کلروفوروم که منجر به مرگ حیوان می‌شد با دقت باز شدند.

پس از خارج نمودن جنینها از لوله های رحمی (بطور متوسط ۸ جنین برای هر موش)، جنینها بدقت از جفت و پرده های جنینی جدا شدند.

در صورت مشاهده هر گونه ناهنجاری ظاهری، نمونه جنینی از مسیر مطالعه حذف می‌گردید. جنینهای طبیعی در محلولهای B4G، کارنوی و بوئن ثابت (fix) شدند و مطابق روش معمول در بافت شناسی پاساژ داده شدند. بلوکهای پارافینی به روش سریال (serial sectioning) در جهات ساژیتال، فرونتال و عرضی با ضخامت ۶-۵ میکرومتر بریده شدند (۷ و ۲۰).

لکتین هیستوشیمی (Lectin Histochemistry):

لکتینهای PNA و BSA1-B4 کونژوگه شده با HRP (Horseradish peroxidase) تهیه شده از شرکت سیگما (SIGMA) در بافر فسفات با غلظت ۰/۱ مول و در PH=۶/۶ برای PNA و در PH=۶ برای BSA1-B4 بمیزان ۱۰ μg/ml رقیق شدند.

جریان تکامل جنینی ترکیبات قندی و اجزاء ماتریکس خارج سلولی تغییر می‌کنند لذا منطقی بنظر می‌رسد که این مولکولها نقش مهمی در تکامل اعضاء داشته باشند (۵ و ۶). در این میان نقش مولکولهای قندی از جمله فوکوز، گالاکتوز و اسیدسیالیک بسیار با اهمیت است (۷ و ۸).

مورفوژنز بافتی نتیجه‌ای از مجموعه مکانیسمهای درون سلولی است که سیگنالهای خارجی تعدیل آن را بعهدہ دارند. این سیگنالها در حقیقت فاکتورهای رشد و اجزاء ماتریکس خارج سلولی می‌باشند که واسطه عملکردی آنها برای شروع مکانیسمهای فوق، ترکیبات قندی سطح سلول (گلیکوکونژوگه‌ها) و مخصوصاً قند انتهایی آنها است (۹ و ۱۰). این ترکیبات قندی بعنوان پلهای مولکولی (molecular bridge) عمل می‌کنند و امکان اتصال فیزیکی مابین سلولها را فراهم می‌آورند.

بعنوان نمونه می‌توان به اتصال لایه‌های داخلی و خارجی جام بینایی اشاره نمود که بدنبال این اتصال فیزیکی، لایه داخلی جام بینایی به شبکیه و لایه خارجی آن به اپیتلیوم پیگمانته (retinal pigmented epithelium) تمایز پیدا می‌کند (۸، ۹ و ۱۱).

تشکیل عدسی محتاج میان کنشهای پیچیده و منظم بین اکتودرم سطحی ناحیه کرانیال، اکتودرم عصبی و مزانشیم زیرین آنها می‌باشد. بدنبال این میان کنشها اکتودرم سطحی ضخیم شده و بدین ترتیب ضخیم شدگی عدسی (lens placode) تشکیل می‌شود (۱۵-۱۲).

ناحیه مرکزی ضخیم شدگی عدسی بطرف داخل فرورفتگی پیدا می‌کند و بدین ترتیب گوده عدسی (Lens Pit) و حباب عدسی (Lens vesicle) تشکیل می‌گردد (۱۶).

این وقایع تکاملی تماماً حاصل میان کنش سلولها با هم و با ماده خارجی سلولی است (۱۷).

از آنجا که تغییرات ترکیبات قندی سطح سلول در روند تکامل طبیعی شبکیه و دیگر اعضاء (نظیر قلب و تیموس) نشان داده شده است و با توجه به اینکه تکامل صحیح دیگر اجزاء چشم محتاج تکامل طبیعی عدسی در حال تکامل است،

دقیقه در بافر سیالیداز شستشو شدند و آنگاه مطابق روش فوق در مجاورت لکتین PNA قرار گرفتند (۷، ۱۱، ۱۸ و ۲۰).

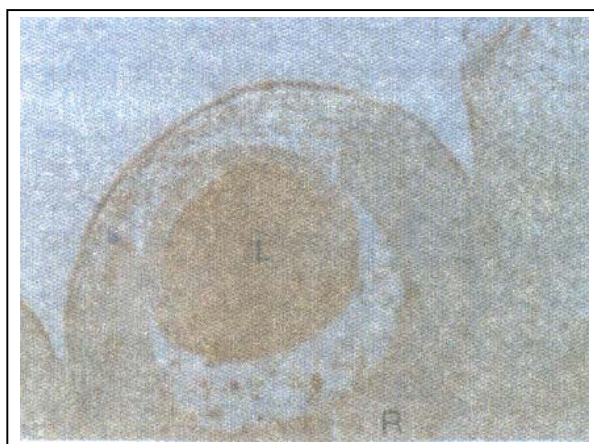
نتایج

تحت تاثیر عوامل القایی ترشح شده از حباب بینایی، اکتودرم سطحی قدری ضخیم می‌شود و ضخیم شدگی عدسی را بوجود می‌آورد.

با تمایز بیشتر در حباب بینایی، ضخیم شدگی عدسی فرورفتگی می‌یابد و حباب عدسی شکل می‌گیرد. غشاء پایه از اولین بخشهایی است که برای ترکیبات ماده خارج سلولی مورد مطالعه رنگ می‌گیرد.

با افزایش ارتفاع سلولهای اپیتلیوم خلفی حباب عدسی، فضای درون حباب عدسی در روز چهاردهم جنینی بطور کامل مسدود می‌گردد و رشته‌های اولیه عدسی (Primary lens fibers) شکل می‌گیرند (تصاویر شماره ۳-۱).

با افزایش سن جنینی تا روز هیجدهم و با تراکم مزانشیم عروقی، کپسول عروقی لنز (Vascular capsule of lens) شکل می‌گیرد و وجود ترکیبات قندی خنثی در کپسول عدسی از روز دوازدهم جنینی کاملاً مشخص می‌شود (تصویر شماره ۳).



تصویر شماره ۱- واکنش فیبرهای عدسی به لکتین در

سلولهای اولیه عدسی در روز دوازدهم جنینی کاملاً مشخص است.
BSA₁-B₄ × 25, L=Lens R=Retina

بافر فسفات فوق محتوی ۰/۰۲gr کلرید منیزیوم، ۰/۰۵gr کلرید کلسیم و ۰/۰۲gr کلرید منگنز به ازای هر صد میلی لیتر بافر بود (۷، ۱۱، ۱۸ و ۲۰).

پس از آبدهی، مقاطع به روش معمول در بافت شناسی و حذف پیگمان کلرور جیوه (dezenkerize) (برای نمونه‌های ثابت شده در B4G)، بمنظور خنثی سازی پراکسیداز درون بافتی (peroxidase endogenous)، مقاطع برش بمدت ۱۰-۵ دقیقه در محلول ۱٪ آب اکسیژنه در متانول قرار گرفتند و آنگاه بمدت دو ساعت در محلول بافر فسفات (Phosphate buffer solution) شستشو شدند. سپس مقاطع بمدت ۲ ساعت در اتاقلک مرطوب در مجاورت لکتینهای فوق قرار گرفتند.

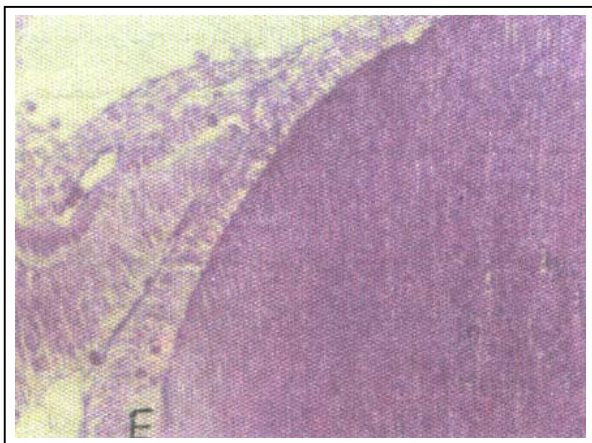
پس از شستشو، مقاطع بمدت ۱۰-۵ دقیقه در محلول بافر فسفات (بمنظور ظهور واکنش diaminobenzidine "DAB" در محلول DAB/H₂O₂ با غلظت ۰/۰۳gr DAB و ۲۰۰ μL آب اکسیژنه به ازای هر صد میلی لیتر بافر) قرار گرفتند. برای توقف واکنش DAB، مقاطع بمدت ۱۰-۵ دقیقه در آب جاری شستشو شدند.

برای رنگ زمینه از Alcian Blue (PH=۲/۵) استفاده گردید. آنگاه مقاطع به روش معمول در بافت شناسی تحت آبدگیری و شفاف سازی قرار گرفتند و در نهایت چسبانده شدند (۶، ۷، ۱۱ و ۱۸).

روش هضم آنزیم سیالیداز ولکتین-PNA (Sialidase digestion/PNA method): آنزیم سیالیداز تهیه شده از شرکت سیگما (SIGMA) در بافر استات (غلظت ۰/۱ مول) و pH= ۵ بمیزان ۰/۱ unit/ml رقیق شد.

پس از آبدهی مقاطع به روش معمول در بافت شناسی و حذف پیگمان کلرور جیوه (dezenkerize)، مقاطع بمدت ۳۰ دقیقه در بافر سیالیداز شستشو شدند. آنگاه مقاطع بمدت ۱۸-۲۴ ساعت در اتاقلک مرطوب و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد در معرض آنزیم سیالیداز قرار گرفتند. سپس مقاطع بمدت ۳۰

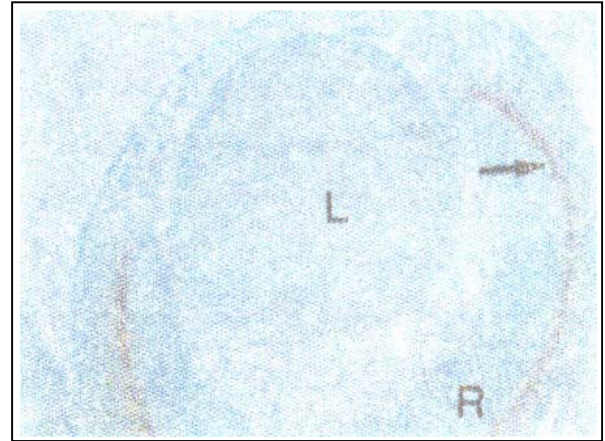
ماهیت اسیدوفیلی استرومای عدسی است (تصاویر شماره ۳ و ۴). در حالیکه سلولهای اولیه عدسی برای لکتین BSA1-B4 پاسخ مثبت می‌دهند و بدین ترتیب حضور قند انتهایی D-Gal در گلیکونژوگه های سطح آنها تایید می‌شود (تصویر شماره ۱)، پاسخ سلولهای عدسی حتی پس از بکارگیری آنزیم سیالیداز برای دی ساکارید Gal/GalNac منفی است (تصویر شماره ۲). همچنین با پیشرفت سن جنین تا هنگام تولد از واکنش سلولهای عدسی به لکتین BSA1-B4 کاسته می‌شود ولی واکنش سلولهای عدسی به PNA با شدت بسیار کم در استرومای عدسی و در سطح راسی (apical) سلولهای ثانویه عدسی ظاهر می‌شود و بدین ترتیب ظهور دی ساکارید Gal/GalNac در این سلولها تایید می‌شود (تصویر شماره ۵).



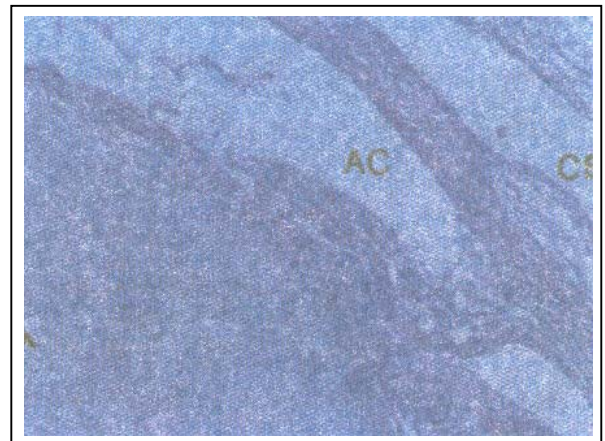
تصویر شماره ۴ - واکنش شدید استرومای عدسی به فوشین اسیدی (پیکان) و شکل‌گیری کامل ناحیه استوای عدسی (equatorial zone) در روز نوزدهم جنینی نشان داده شده است. Trichrome×250, E=Equatorial zone, R=Retina

بحث

تکامل عدسی محتاج میان کنشهای پیچیده و منظمی بین حباب بینایی، اکتودرم سطحی و مزانشیم بین آنها است. در نتیجه این میان کنشها، تغییرات مورفولوژیک ویژه عدسی از مرحله ضخیم شدگی تا گوده و حباب عدسی اتفاق می‌افتد (۱۴).



تصویر شماره ۲ - عدم واکنش فیبرهای عدسی به لکتین PNA حتی پس از بکارگیری آنزیم سیالیداز در روز دوازدهم جنینی کاملاً مشخص است. Sialidase digestion/PNA method×40, L=Lens, R=Retina



تصویر شماره ۳ - واکنش کپسول عدسی برای ترکیبات قندی خنثی (پیکان کوچک) و شکل‌گیری کمان هسته‌ای (nuclear bow) در روز نوزدهم جنینی (پیکان بزرگ) نشان داده شده است. PAS/Alcian Blue PH=2/5×200, AC=Anterior Chamber, CS= Conjunctival Sac

در روز بیستم جنینی با تمایز کامل سلولهای استوای عدسی، کمان هسته‌ای (nuclear bow) و رشته‌های ثانویه عدسی (Secondary lens Fibers) کاملاً شکل می‌گیرد (تصویر شماره ۴). واکنش اسیدوفیلی استرومای عدسی در رنگ‌آمیزی H&E و رنگ آمیزی تری کروم با اسید فوشین مؤید

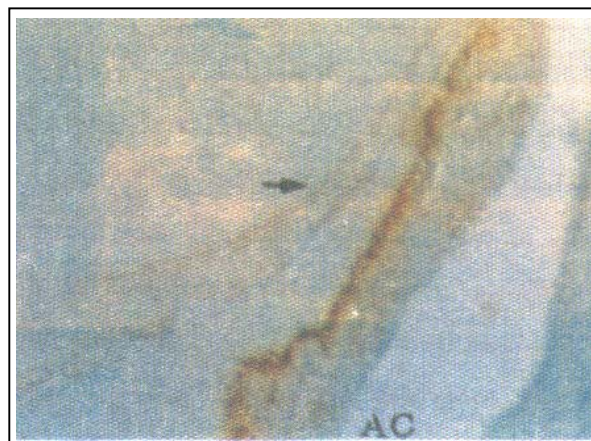
سلولی خود ناظر بر رفتارهای سلولی در برابر سیگنالهای خارجی است بنابراین نوعی تعامل مابین ماده خارج سلولی و سلول طی روند تکامل جنینی وجود دارد (۱۵، ۲۳). بهمین دلیل امروزه توجه محققان همچون Werb, Triphathi و Azuma به آن معطوف شده است (۱۵، ۲۴ و ۲۵).

مطالعات Triphathi اهمیت کندروایتین سولفات را در تشکیل حباب عدسی نشان داد (۱۵). این ترکیب ماده خارج سلولی با مهار تقسیم در لبه‌های گوده عدسی موجبات تشکیل حباب عدسی را فراهم می‌آورد (۱۵).

موقعیت ویژه عدسی بین اتاق قدامی و فضای ویتروس (Vitreous space) نقش بسیار با اهمیتی در تقسیم و تمایز سلولهای اپیتلیوم قدامی و خلفی عدسی فراهم می‌کند (۱۳).

مطالعه حاضر نشان داد که همزمان با تغییرات مورفولوژیک در تکامل عدسی، ترکیبات اسیدوفیل در استرومای عدسی و ترکیبات قندی خنثی در کپسول عدسی ظاهر می‌شوند (تصاویر شماره ۴-۱). بنابراین منطقی بنظر می‌رسد که تصور شود عدسی نقش کلیدی فوق را در تمایز خود و دیگر اجزاء چشم از طریق تغییر در ماتریکس اطراف اعمال می‌نماید چرا که این تغییرات، پاسخ یا رفتار سلولها را در برابر سیگنالهای خارجی تنظیم می‌کنند. در حالیکه در مراحل اولیه تمایز عدسی قند انتهایی D-Gal در استرومای عدسی قابل ردیابی است، هیچ‌گونه اثری از دی ساکارید Gal/GalNac در این مرحله از تمایز عدسی دیده نمی‌شود. قندهای فوق بترتیب با PNA و BSA1-B4 و ردیابی می‌شوند. بعلاوه مشاهده شد که با پیشرفت سن جنینی تا هنگام تولد از میزان حضور یا بیان (expression) قند انتهایی D-Gal کاسته می‌شود بطوریکه در روز بیستم جنینی، عدسی به لکتین BSA1-B4 پاسخ ضعیفی می‌دهد ولی با افزایش سن جنینی از روز دوازدهم جنینی دی ساکارید Gal/GalNac در عدسی بصورت منتشر و بسیار پراکنده مخصوصاً در سطح راسی (apical) سلولهای عدسی ظاهر می‌شود.

این موضوع که ظهور و یا حذف این قندهای انتهایی در گلیکوکونژوگه‌های سطح سلول اهمیت تکاملی دارند، قبلاً در



تصویر شماره ۵- واکنش ضعیف فیبرهای ثانویه عدسی

لکتین PNA پس از بکارگیری آنزیم سیالیداز موید ظهور قندانتهایی GalNac/Gal در این فیبرها (نوک پیکان) در روز بیستم جنینی است. Sialidase digestion/PNA×275

هر گونه تغییر و انحراف در هر یک از مراحل تکاملی فوق منجر به آنومالیهای ویژه عدسی می‌گردد که آب مروارید مادرزادی نمونه‌ای از آن است (۱۵، ۱۹ و ۲۱). بعلاوه تکامل صحیح دیگر اجزاء چشم مانند قرنیه، اجسام مژگانی، اپیتلیوم پیگمانته، کوروئید و اسکلا مستقیماً تحت نظارت عدسی است (۱۵).

مطالعات Dong و همکاران در سال ۱۹۹۱ دخالت کپسول عدسی و غشاء بروکا در این زمینه را مورد تاکید قرار داده است.

میان کنشهایی که منجر به تکامل صحیح و پشت سرهم وقایع مورفوژنز عدسی می‌شوند توسط ماتریکس خارج سلولی هدایت می‌شوند و کپسول عدسی یکی از مهمترین این عوامل است (۱۷).

مطالعات Gulleberg و همکاران در سال ۱۹۹۵ و Snow و همکاران در سال ۱۹۹۴ نشان داد که تعیین ماهیت میان کنشهای مسئول مورفوژنز اعم از سلول - سلول و سلول - ماده خارج سلولی تحت کنترل ترکیبات مختلف و متعدد ماده خارج سلولی است. تقریباً تمام سلولهای حیوانی در مراحل از تکامل، این ترکیبات را در اطراف خود ترشح می‌کنند (۲، ۴، ۹، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۲۲ و ۲۳). از آن که سلول ماده خارج سلولی اطراف خود را ترشح می‌کند و این ماده خارج

- مسئولین بخش medline معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد خصوصا سرکار خانم قاسمی و کارشناسان آزمایشگاه ژنتیک دانشکده پزشکی مشهد.
- آزمایشگاه هیستوشیمی و جنین شناسی دانشکده پزشکی مشهد بخصوص سرکار خانم متجدد. لازم بذکر است که تمام امور آزمایشگاهی این طرح تحقیقاتی در این آزمایشگاه انجام شد.

منابع

- 1- Cormak D.H. Ham's Histology. 9th ed. J. B Lippincott com. Philadelphia, 1987, pp:75-80.
- 2- Lodish H., D.Bltimore., A.Breck., et al., Molecular cell biology 3rd ed. Scientific American. 1995, PP:1123-200.
- 3- Ailbert B., D.Bray., J Lewis., et al., Molecular biology of cell, 2nd ed. Gatland pub 1989, P.802 .
- 4- Kaufman M.H Atlas of mouse development. Acad press , London 1992, PP:1-15.
- 5- Alles A.J., A.R Fazel., S.S Spicer Distribution of Glycoconjugates in the optic vesicle and optic cup .Anat Embryol 1990, 182:911-16 .
- 6- Faraidi C., C Falugi C. S. Fasulo Glycoconjugate expression changes during rana dalamatina early development. Eur.J.Histochem. 1996, 40(1)67-74.
- 7- Fazel A.R B.A.schulte R.P.Thompson et al., Presence of a unique glycoconjugate on the surface of rat primordial germ cells during migration. Cell differentiation 1987, 21: 199-21.
- 8- Vandenbrule F.A., P.L.Fernandes.,C.Buicau Differential expression of galectin and galectin-3 during first trimester of Human embryogenesis. Dev Dyn. 1997, 209:399-405.
- 9- Hegemen G.S., M.F.Marmor., yao XY., et al., The interphotoreceptor matrix mediates primate retinal adhesion. Arch Oph 1995, 113(5):655-90.
- 10- Libby R.T., D.D Hunter., W.J Brunken Developmental expression of laminin B2 in rat retina. Invest Ophthalmol. Vis Sci. 1996, 37(8):165-61.

مطالعات Alles و همکاران و Fazel و همکاران (بترتیب برای شکل گیری حباب بینایی و تکامل قلب و مهاجرت سلولهای اولیه جنسی "Primordial Germ cell, PGC") نشان داده شده است (۵، ۷، ۱۱ و ۱۸).
از آنجا که کاربرد آنزیم سیالیداز تغییری را در پاسخ عدسی به لکتین PNA نشان نداد بنظر می‌رسد که این مولکول قندی بزرگ در استرومای عدسی بیان نمی‌شود.
اسید سیالیک از مولکولهای قندی بزرگ است که توانایی ویژه‌ای برای پوشاندن قندهای انتهایی ترکیبات سطح سلول دارد. اهمیت تکاملی اسید سیالیک در تکامل قلب و شبکیه نشان داده شده است (۱۱ و ۲۲).
از آنجا که اهمیت تغییرات ترکیبات سطح سلول و ماده خارج سلولی در پاتوژنز برخی بیماریهای چشمی مانند جدا شدگیهای شبکیه (Retinal Detachment) و Reactive - Proliferative Retinal Pigmente Epithelium (Primary open angle glucoma) و گلوکوم اولیه با زاویه توزیع طبیعی ترکیبات خارج سلولی و گلیکوکونژوگه‌های سطح سلول راه را برای درک هر چه بیشتر فیزیوپاتولوژی دیگر بیماریهای چشمی مثل انواع آب مروارید فراهم می‌کند، بیماریی که طی سه دهه اخیر بخش بزرگی از جراحیهای چشمی را بخود اختصاص داده است (۱۹، ۲۴ و ۲۶).

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله بر خود واجب می دانند از مؤسسات و افراد ذیل نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشند :
- معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که این طرح تحقیقاتی با حمایت‌های مالی آن اداره محترم انجام گردید .
- ریاست محترم دانشکده پزشکی مشهد و هلال احمر جمهوری اسلامی ایران که حمایت مالی خریدهای ارزی این طرح تحقیقاتی را عهده دار بودند .

- 11- Fazel A.R., B.A schulte. Glycoconjugate unique to migrating primordial Germ cell Differs with Genera . *Anat.Record.* 1990, 228:177-84.
- 12- Moore K.L The developing Muman. 4th ed. W.B Saunders. 1987, PP:402-12.
- 13- Gilbert S.F Developmental biology. 5 thed Sinauer Associated Inc. Massachusetts 1997, 279-283,672-690.
- 14- Paterson C.A., N.A Delamere The lens. In Adler's physiology of the eye. Edited by M.A.Hart. 9th ed.Mosby pub, Missouri, 1992, Missouri PP:348-90.
- 15- Tripathi B.J., R.C.Tripathi., A.M.Livingston et al., The role of Growth Factors in the embryogenesis and differentiation of the eye. *Am.J.Anat.* 1991, 192:442-71.
- 16- Snow R.L., J.A.Robson Ganglion cell Neurogenesis, Migration and early differentiation in the chick retina . *Neuroscience* 1994, 58(2): 399-409.
- 17- Dong L.J., A.E chung. The expression of the genes for entactin , Laminin A,Laminin B1.and Laminin B2 in Murine lens Morphogenesis and eye development. *Differentiation* 1991, 48:157-72.
- 18- Fazel A.R., H.sumida., B.A Schulte., et al., Lectin histochemistry of the embryonic heart: fucose specific lectin binding sites in developing rats and chicks . *Am.J. Anat.* 1989, 184:76-84.
- 19- Baratz K.H., D.L Gray., D.O.Hodge Cataract extraction rates in olmsted county Minnesota 1980 Through 1994. *ARC. Ophthalmol.* 1997, 115(11).1441-6.
- 20- Drury R.A.B Carleton's histological techniques. 5th ed. oxford univ. press. Oxford 1980, pp: 221-260,36-57.
- 21- Williams P.L., R.warwick., M.Dyson., L.H.Bannister. Gray's anatomy. 37th ed International student edition, London. 1989, pp:(201-4).
- 22- Gullberg D., P.Ekblom. Extracellular matrix and it's receptor during development . *Int.J.Dev.Biol.* 1995, 39:845-84.
- 23- Ruiero O.,M.Leconete., E.Michoud., et al., Involvement of cell-cell interaction in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes-Metal.* 1997, 23(1):30-42.
- 24- Azuma N., A.Hirkata., T.Hida., et al., Histochemical and immunohistochemical studies on keratan sulfate in the anterior segment of the developing human eye. *Exp Eye.Res.* 1994, 58:277-86.
- 25- Werb Z, ECM and cell surface proteolysis: Regulating cellular ecology. *cell* 1997, 91:439-42.
- 26- Bopp S., S.Hinfawi., H.L aqua The photoreceptor cells and retinal pigment epithelium of normal and diseased human retinas express different glycoconjugates. *Ger.J.O phthalmol.* 1994, 3(1):27-36.

STUDY OF CELL SURFACE AND EXTRACELLULAR MATRIX SUGARS CHANGES DURING LENS DEVELOPMENT

^I
*M. R. Arab, Ph.D

^{II}
T. Tlaili Khouzani, Ph.D

^{III}
A. Fazel, Ph.D

ABSTRACT

Lens development requires precise interaction between cranial surface ectoderm, Neuroectoderm and interposed mesenchyme. Cell surface glycoconjugate and extracellular matrix govern lens morphogenesis. The aim of the present study was to investigate the presence and distribution of Glycoconjugate and extracellular matrix components.

Embryos from day 11-20 of gestation from whistar rat were collected. Vaginal plug recognized as embryonic day of zero of gestation. Paraffin blocks were cutted serially and histochemical staining (H&E, PAS/Alcian Blue, PH=2.5 and trichrome) and lectin histochemistry (PNA,BSA1-B4,S/PNA) were carried out. PNA and BSA1-B4 lectins shows Gal/Galnac and D-Gal in lens fibers respectively. Application of sialidase enzyme did not show any increase of reactivity of lens fibers to PNA. Histochemical staining showed the presence of Acidophilic material and neutral Glycosaminoglycans in lens stroma and lens capsule respectively. It seems that extracellular matrix and cell surface Glycoconjugates changes synchronous with development.

Key words : 1) Lens 2) Lectin 3) Extracellular Matrix 4) Sugar 5)Glycoconjugate

This article is a summary of the thesis of Ph.D in anatomy, Under supervision of A. Fazel Ph.D, 1999; Also this research is conducted under financial support of undersecretary of research of Mashhad University of Medical Sciences and Health services.

I) Ph.D. Assistant professor of anatomy, faculty of medicine, Zahedan University of Medical sciences and Health services, Zahedan, Iran(*Corresponding author)

II) Ph.D. Assistant professor of anatomy, faculty of medicine, Shiraz University of Medical sciences and Health services, Shiraz, Iran.

III) Ph.D. Associate professor of anatomy, faculty of medicine, Mashhad University of Medical sciences and Health services, Mashhad, Iran.