

---

# Hiyalüronan, tanı ve tedavideki önemi

Metin AYTEKİN<sup>1</sup>, Emrah ÇAYLAK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cleveland Klinik, Patobiyoloji Bölümü, Cleveland, Ohio, Amerika Birleşik Devletleri,

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Biyokimya Bölümü, Elazığ, Türkiye.

## ÖZET

### *Hiyalüronan, tanı ve tedavideki önemi*

İlk olarak 1934 yılında tanımlanan ve hücre dışı matriksinin ana bileşenlerinden glukozaminoglikanların bir alt sınıfı olan hiyalüronan, insan vücudunda hem yapısal olarak yer almakta, hem de fizyolojik olarak birçok fonksiyona katılmaktadır. Özellikle metabolizmasının ve yer aldığı işlevlerde etkisini gösterdiği reseptörlerin daha fazla bilinmesi önem arz etmektedir. Son yıllarda bazı inflamasyon bozuklukları için potansiyel terapötik bir madde olarak değerlendirilen hiyalüronanın ayrıca ilişkili olduğu hastalıkların ortaya çıkartılması ve klinik tanıda bazı hastalıklarda bir belirteç (biyomarkır) olarak kullanılması ileriki yıllarda önemini daha da artıracaktır. Bu derlememizde hiyalüronan molekülünün yapısını ve hastalıklardaki rolünü ele aldık.

**Anahtar Kelimeler:** Hiyalüronan, metabolizma, patoloji, tedavi, tanı.

## SUMMARY

### *Hyaluronan and the importance of hyaluronan in diagnosis and treatment*

Metin AYTEKİN<sup>1</sup>, Emrah ÇAYLAK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cleveland Clinic, Department of Pathobiology, Cleveland, Ohio, United States of America,

<sup>2</sup> Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Fırat University, Elazığ, Turkey.

*Hyaluronan is a glycosylaminoglycan and is the main component of the extracellular matrix. It was first described in 1934 and has many structural and physiological functions in the human body. An upcoming area of study relates to the hyalu-*

---

### **Yazışma Adresi (Address for Correspondence):**

Metin AYTEKİN, Department of Pathobiology, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, Ohio, USA 44195

CLEVELAND - UNITED STATES OF AMERICA

e-mail: aytekim@ccf.org

ronan receptors, since these affect the metabolism and function of hyaluronan. This knowledge will be useful in evaluating the role of hyaluronan in diseases, as a therapeutic agent for inflammation disorders and as a diagnostic biomarker. In this review, we discussed the structure of hyaluronan and its role in diseases.

**Key Words:** Hyaluronan, metabolism, pathology, treatment, diagnosis.

Son zamanlarda birçok hastalığın patolojisinde rolü olabileceği düşünülen hiyalüronan molekülüne ilgi her geçen gün daha da artmaktadır. Önceleri basit bir hücre dışı matriks bileşeni olarak düşünülen hiyalüronanın, birçok hücre içi döngü yollarını (signaling pathway) etkilediği ve hiyalüronan fragmentlerinin de birçok fizyolojik süreçte yer aldığı ortaya çıkarılmıştır. Bu durum, hiyalüronanın ileride çoğu hastalığın bilinmeyen patolojilerinin anlaşılmasında yardımcı olabileceğini göstermektedir (1). Bu nedenle öncelikle hiyalüronan molekülünün yapısının ve metabolizmasının iyi bir şekilde anlaşılması önem arz etmektedir. Bu çalışmamızda da hiyalüronan molekülünün genel özellikleriyle bazı hastalıklardaki rollerini derleyerek genel bir bakış sağlamaya çalıştık.

Hiyalüronan ilk olarak 1934 yılında vitröz hümmör içinde keşfedilmiştir (2). Vücuttaki tüm dokularda bulunmakla birlikte en çok deri, eklem sıvısı, umbilikal kord (göbek bağı) ile gözün vitröz "body" kısmında bulunmaktadır. Hücre dışı matriksindeki miktarının hasarlı dokuların tamirinde iş yapabilmesiyle doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir (3-7). Hiyalüronan molekülünün en önemli fizyolojik fonksiyonlarından birkaçı; su homeostazisi, damarlanma (anjyogenezis) ve hücre göçünün düzenlenmesidir (8). Ayrıca hiyalüronan dokular etrafında oluşan tümör invazyonunda da önemli bileşenler arasında yer almaktadır (9,10). Yine hiyalüronan molekülüne son zamanlarda ilginin artmasının sebeplerinden biri de katarakt cerrahisi ve osteoartrit tedavisinde kullanılmaya başlanmasıdır. Makalemizde son yıllarda hiyalüronan hakkında yapılmış çalışmalarını toplayarak, birçok patolojik hastalığın tedavisi ve klinik testlerle tanısının konulmasında bu molekülden yararlanılması ve hiyalüronanın dolaylı yoldan hücre içi döngülerini nasıl etkilediğinin araştırılması fikrine ışık tutmak istedik.

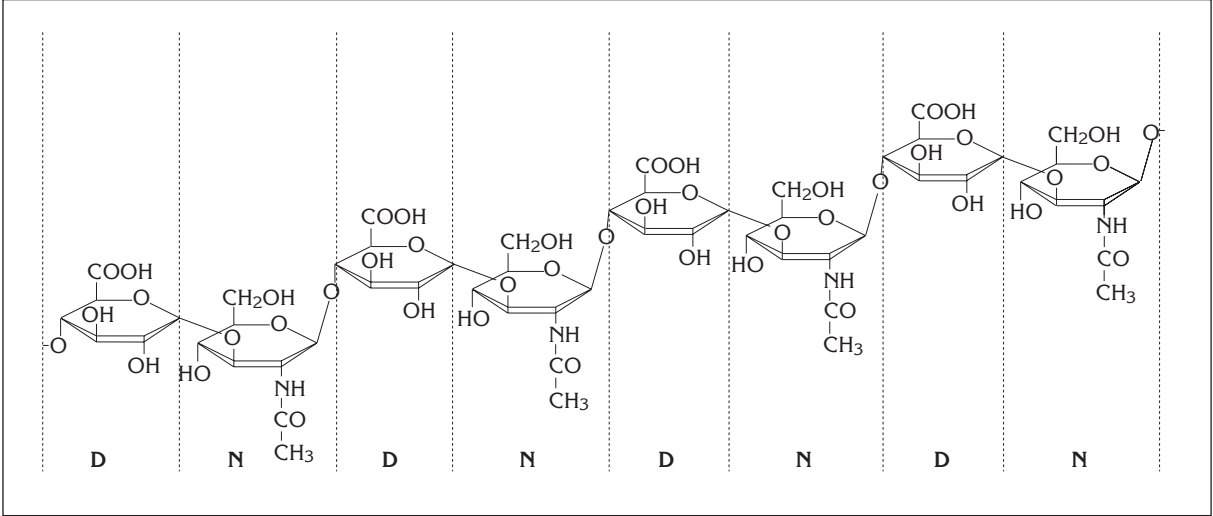
## HİYALÜRONAN

Hücre dışı matriksi üç ana sınıf biyomolekül içermektedir. Bunlar; yapısal proteinler (örn. kollajen, elastin vs.), özelleşmiş proteinler (örn. fibronektin, laminin vs.) ve proteoglikanlardır. Proteoglikanlar bir veya daha fazla glukozaminoglikan zincirlerinin bağlandığı bir çekirdek (core) protein içerir. İnsan vücudunda bulunan glukozaminoglikanlar; hiyalüronan, heparan sülfat, heparin, kondroitin sülfat, keratan sülfat I ve II ile dermatan sülfattır. Hiyalüronan büyük bir polisakkarid olup; N-asetil glukozamin ile D-glukuronat şeker ünitelerinin  $\beta 1 \rightarrow 3$  ve  $\beta 1 \rightarrow 4$  bağları ile birleşmesinden oluşur (11,12) (Şekil 1).

Hücre dışı matriks bileşenleri organların histolojik yapılarına katkıda bulunmakta, ayrıca çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerin içinde de yer almaktadır. Fizyolojik olarak hiyalüronanın en önemli görevleri eklemlerde sinovyal sıvıda yer alarak kayganlık sağlaması ve dokularda metabolik ürünlerin taşınmasına imkan verirken, infeksiyon etkenlerinin geçmesine bir set oluşturmalarıdır. Diğer taraftan astım, amfizem ve akciğer fibrozisi gibi bazı akciğer hastalıklarının patogeneğinde ise anormal hücre dışı matriksinin oluşması rol oynamaktadır (13). Hiyalüronanın proanjyogenezis etkisinin vasküler endotel büyüme faktörü ile yükselmesi bu molekülün tümör damarlaşmasında da etkili olabileceğini düşündürmektedir (14,15). Hiyalüronan ve ürünlerinin moleküler düzeyde birçok organ ve hastalığındaki etkileri araştırılmakta; ayrıca tedavi edici yönünden estetik cerrahi alanında dolgu maddesi olarak yararlanılmaktadır (16).

### Hiyalüronan Metabolizması

**a. Sentezi:** Hiyalüronan sentezi hiyalüronan sentaz (HAS) olarak adlandırılan üç adet hücre zarı enzimleri tarafından katalize edilir; HAS1, HAS2 ve HAS3. HAS1 ve HAS2 enzimlerinin sentez ettiği hiyalüronan yüksek molekül ağırlığına sahip



Şekil 1. Hyalüronanın genel moleküler yapısı.  
D: D-glukuronik asit, N: N-asetil-D-glukozamin.

iken, HAS3 enziminin sentez ettiği hyalüronan ise düşük molekül ağırlığına sahiptir (17). HAS ekspresyonu ise hücre çeşidine bağlı olarak değişmektedir. Sikloheksimid, endoplazmik stres, çift iplikçikli RNA [double-stranded RNA (dsRNA)] gibi tüm protein sentezi inhibitörleri hyalüronan üretimini artırır (18). Kas hücrelerinde de hyalüronan sentezi virüs veya mimetik etkili sentetik dsRNA olan poliinozinik asit: Polisi-tidilik (poly I:C) ile stimülasyon sonucu artar (18-20).

HAS1 proteini hyalüronanı sentez etmesinin yanında D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukoza-min kalıntılarıyla ilişkili farklı aminoasit kalıntı-larını da sentez edebilir. HAS1 ve HAS2  $2 \times 10^5$  ile  $2 \times 10^6$  Da moleküler ağırlığındaki daha büyük hyalüronanların sentezini gerçekleştirirken; HAS3  $1 \times 10^6$  ile  $1 \times 10^5$  Da'luk daha küçük olanlarını sentez etmektedir (17). Bu enzimlerin ekspresyonları büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından stimüle edilerek düzenlenir (21). Eli-as ve arkadaşları sağlıklı insan akciğer fibrob-lastlarında hyalüronan üretimini interferonların, lemfotoksinlerin ve tümör nekroz faktörünün hücrel HAS aktivitesini artırarak stimüle ettiğini gösterdi (21). Epidermal büyüme faktörleri HAS ekspresyonunu; "transforming growth fac-tor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )" ise HAS1 ekspresyonunu p38 MAPK ve MEK yollarını kullanarak artırır (22). TGF- $\beta$  aynı zamanda HAS3'ün ekspresyonunu

da baskılar (23). Doku hasarlarının HAS enzim-lerinin ekspresyonunu artırdığı tespit edilmiştir (24-26). Son yapılan çalışmalarda da HAS2 en-ziminin özellikle idiyopatik akciğer yüksek tansiyonunda yükseldiği belirlenmiştir (19,27). Li ve arkadaşları tarafından HAS2 enziminin mRNA seviyesinin radyasyonla akciğer hasarına uğra-tılmış farelerde de arttığı gözlemlenmiştir (24). HAS enzimleri ve hyalüronanın artışı otoimmün ve böbrek kaynaklı hasarlarda da gözlenmiştir (26,28).

**b. Katabolizması:** Hyalüronan hyalüronidaz en-zimleri tarafından yıkılır. Bu enzimler hyalüro-nanda bulunan N-asetil-D-glukozamin ve D-glu-kuronik asit arasındaki hekzozaminidik  $\beta$  (1→4) bağlantısını hidroliz ederek çalışır (29). İnsan genomunda altı hyalüronidaz enzimi bulunur ve %40 oranında birbirilerine benzer. Bu enzimler insan kromozomunda 3p21.3 ve 7q31.3 üzerin-de olanlar olarak iki gruba ayrılmıştır. 3p21.3 lo-kasyonunda bulunanlar Hyal-1, Hyal-2 ve Hyal-3'tür. 7q31.3 üzerindeki ise Hyal-4, *HYALP1* ve sperm adezyon molekülü 1 (*SPAM1*) olarak adlandırılır (Tablo 1) (30,31). *SPAM1* geninin ürettiği protein olan PH-20 hariç her birinin tek bir doku dağılımı vardır ve yaygın şekilde eksp-rese edilir.

İlk somatik memeli hyalüronidaz enzimi insan plazmasından elde edilen 57 kDa'luk Hyal-1'dir. Bu enzim karaciğer, kalp, dalak, böbrek ve insan

**Tablo 1. Hiyalüronidaz enzimi genleri ve bu genlerin ürünleri olan proteinler.**

Gen	Lokalizasyon	Protein
<i>HYAL4</i>	7q31.3	Hyal-4
<i>HYALP1</i>	7q31.3	-
<i>SPAM1</i>	7q31.3	PH-20
<i>HYAL1</i>	3p21.3	Hyal-1
<i>HYAL2</i>	3p21.3	Hyal-2
<i>HYAL3</i>	3p21.3	Hyal-3

serumunda da bulunur ve asidik pH'larda aktif haldedir (30,32). Daha sonraki çalışmalarda insan idrarının da çok miktarda hiyalüronidaz enzimleri içerdiği ve bu enzimlerin plazmada bulunanlardan çok daha spesifik aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (33). Hyal-2 enzimi ise Hyal-1'den daha düşük enzim aktivitesine sahiptir (34). Hyal-2, yüksek moleküler ağırlığına sahip hiyalüronanın yıkılmasında daha çok görev alır. Hyal-2'nin yıkıma uğrattığı hiyalüronanı daha küçük parçalara PH-20 hidroliz eder (35). Hyal-3, en çok testislerde ve kemik iliğinde eksprese edilmekle birlikte diğer organlarda da zayıf bir şekilde eksprese edilir. Hyal-3 enziminin hiyalüronan yıkımındaki rolü veya enzim aktivitesi tam açıklığa kavuşturulamamıştır. Bir diğer hiyalüronidaz enzimi olan PH-20, *SPAM1* geni tarafından kodlanır (36). Spermin baş kısmında bulunan bu hiyalüronidaz enzimi dölleme sırasında sperm hücresi tarafından salgılanır ve yumurtanın kabuğunda çok miktarda bulunan hiyalüronanın yıkılmasını nötral bir pH ortamında aktif olarak sağlar (37). *Hyal-4* geninin ürünü olan *HYAL-4* enzimi ise daha çok kondrotin ve kondrotin sülfat üzerine etkili olan kondrotinazdır. Fakat halen hem Hyal-3'ün hem de *Hyal-4*'ün hakkında çok detaylı çalışmalar bulunmamaktadır (38).

*HYALP1* psödogen olarak insanda bulunur (31). Yapılan çalışmalar bu genin RNA ve proteininin fare testislerinde çok miktarda bulunduğunu göstermiştir (39). Fakat RNA ve protein büyüklüğü dışında bu gen ve ürünleri ile fonksiyonlarına ait henüz bir araştırma yapılmamıştır.

Farklı hiyalüronidaz enzimlerindeki genetik bozukluklar klinik olarak çeşitli sendromların oluş-

masına neden olmaktadır. Örneğin; *Hyal-4* kromozom üzerinde 7q bölgesine yakındır ve Michelin Tire sendromu hastalarında inversiyon olduğu gözlemlenmiştir (40). İnsan plazmasındaki Hyal-1'in hasara uğraması ise "Mucopolysaccharidosis IX" olarak rapor edilmiştir (41).

Hiyalüronanın katabolizması halen tam olarak aydınlatılmış değildir. Örneğin; idrar içinde iki çeşidi bulunan hiyalüronidazın neden plazmada bir çeşidinin bulunduğu veya neden birden fazla tipte hiyalüronidazın olduğu ya da hiyalüronidazın hangi formlarının in vivo daha aktif oldukları cevap bekleyen sorular arasındadır. Ayrıca, tanımlanan altı formundan başka daha keşfedilmeyi bekleyen hiyalüronidazlar da olabilir. İleriki çalışmalar bu konuların aydınlatılmasına yardımcı olacaktır.

### Hiyalüronan Reseptörleri

Hiyalüronan hücreler arasında yoğun halde bulunmakla birlikte aynı zamanda hücre proliferasyonunu tetikler ve hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanır. Bağlandığı reseptörlerden bilinenleri CD44, RHAMM ve lemfatik damar endotelial hiyalüronan reseptör-1 (LYVE-1)'dir (4,42-50).

Bu reseptörlerin içinde en çok CD44 önem arz etmektedir. Hiyalüronanın hücre proliferasyonuna katkısını hücre adezyon etkileşimlerine katılan CD44'e bağlanmasıyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Böylece hiyalüronan anjiyogenez, agregasyon, proliferasyon ve hücre göçünü stimüle eder (42,44,45). CD44'e hiyalüronanın bağlanmasının inflamasyon, metastaz, tümör gelişimi ve T-hücrelerinin aktivasyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir (51). Aynı zamanda hiyalüronanın degrade olmuş ürünleri CD44'ten bağımsız olarak inflamasyon özelliğine sahiptir (52).

Yapılan çalışmalar diğer bir hiyalüronan reseptörü olan RHAMM'ın büyük bir olasılıkla hücre içi veya hücre zarındaki hiyalüronana bağlanabileceğini göstermektedir. Bu bağlanma ile mikrotüp aktivasyonu ve mitotik iplikçiklerin düzenlenmesinde rol oynar (53). RHAMM, bir integral membran proteini olmadığından konvansiyonel olmayan mekanizmalar ile hücre sinyal yollarını (signaling pathway) stimüle eder. RHAMM'ın

hücre içi çözünebilir formu çekirdekte lokalize olur ve hücre döngüsü ile mitotik iplik oluşumunu kontrol eder (53-55). Hücre yüzeyinde bulunan RHAMM'ın ise G2/M safhasına geçiş için gerekli olduğu gösterilmiştir (55). Buradan da anlaşılacağı üzere hem hücre içi hem de hücre yüzeyindeki RHAMM hücre döngüsünde görev almaktadır.

CD44 reseptöründe olduğu gibi LYVE-1 reseptörünün N-terminal kısmında da bir hyalüronan bağlanma noktası bulunur. CD44 reseptörünün zinciri ile LYVE-1 reseptörleri arasında %57 benzerlik vardır (56). Bu benzerlikten dolayı görevlerinin de benzer olabileceği düşünülmektedir.

### Hyalüronanın Klinik Önemi

Hyalüronan hücre dışı bileşeni olarak proteoglikanları stabilize ettiği gibi aynı zamanda dokuların gelişmesi ve onarımına da yardımcı olur (57,58). Son çalışmalar hyalüronanın inflamasyonda da önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. Hyalüronanın bu inflamasyon aktivitesinin dokudan dokuya değişebilen, binlerce ile milyonlarca arasındaki kDa'lara varan moleküler ağırlığıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, düşük moleküler ağırlıklı hyalüronanın çeşitli sitogenleri stimüle ettiği de bilinmektedir (59-61). Tam tersi olarak yüksek moleküler ağırlığına sahip hyalüronan ürünlerinin ise antiinflamasyon özelliği olduğu ve doku onarımını sağladığı da gösterilmiştir (62,63). Endotel hücreleri ve kas hücreleri de hyalüronan sentez eder. Sentez edilen hyalüronanın bu hücrelerin proliferasyonunu ve göçünü etkilediği düşünülmektedir. Ayrıca sentez edilen hyalüronan fragmentlerinin, hücre içi döngülerini etkilerken aynı zamanda in vivo ortamda damarlaşmanın oluşmasını da etkilediği varsayılmaktadır (64). Hyalüronanın vasküler hücre fenotipinin moleküler efektörü olarak önemli bir görevi de vardır. Ateroskleroz ve resterozda önemli olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (65,66). Fakat hala hyalüronanın gerek vasküler hücreler gerekse diğer hücreleri etkileme mekanizması tam anlaşılabilir değildir.

Yukarıda da belirttiğimiz gibi hyalüronanın hücre göçü ile proliferasyonu, inflamasyona yanıt ve anjiyogenez (damarlaşma) gibi organizma için

önemli birçok olayda insan vücudunda rolü olduğu düşünülmektedir (67). Hyalüronanın yüksek viskoelastik özelliği bulunur. Bu özelliklerinden dolayı hyalüronan eklem ve göz hastalıklarında tedavi amaçlı kullanılır (68). Örneğin; katarakt oluşumu göz lensinin saydamlığını kaybetmesi sonucu ortaya çıkan bir rahatsızlıktır ve körlüğe sebebiyet verebilir. Bu göz rahatsızlığı için belirli bir ilaç tedavisi olmadığından cerrahi tedavi uygulanır. İşte bu cerrahi müdahale sırasında ameliyatın yapıldığı yerdeki endotel hücreleri tahribata uğrayacaktır ve hemen periferik endotel hücreleri yaralanan dokuyu tedavi etmeye çalışacaktır; fakat zaten zayıf onarım kabiliyetine sahip bu hücreler yara büyük ise yetişemez ve yara içine su sızabilir ki, bu da kornea ödemeine sebebiyet verebilir. Hyalüronan gibi viskoelastik materyaller kullanarak katarakt cerrahisinde bu problemin aşılacağına dair makaleler vardır (69-72). Bu molekül hali hazırda çok hasarlı yaraların iyileştirilmesinde de kullanılmaktadır (73). Son yıllarda yapılan çalışmalar, serum hyalüronan seviyelerinin alkolsüz karaciğer yağlanmasıyla oluşan fibrozis için %86-100 duyarlılık ve %88 özgüllük ile en iyi belirteçlerden birisi olabileceğini göstermektedir (74-77). Diğer sebeplerden meydana gelen fibrozisler için de durum aynıdır (78).

Eklem rahatsızlıklarında da hyalüronan molekülünün önemli bir yeri bulunur (79,80). Osteoartrit en başarılı uygulamalarından birisi hyalüronandır ve eklemlerde kıkırdağın dejenere olmasını önlediği ve artiküler kıkırdağı korumak için hücre dışı matriksten proteoglikanları salgıladığı gösterilmiştir (81-83). Aynı zamanda sinovyal sıvının özelliklerini korumasına da yardımcı olduğu ve ağrı hissini azalttığı rapor edilmiştir (84,85). Hyalüronanın yukarıda belirttiğimiz etkilerindeki gibi bu özelliklerinin mekanizması da henüz aydınlanmış değildir. Sistemik skleroz ve kanser gibi birçok hastalıkta da önemli bir klinik belirteç (biyomarkır) olabileceği düşünülmektedir (57,86-88). Özellikle kanserde hyalüronanın rolü çok karışıktır. Birçok çalışma yapıldığı halde mekanizması tam açığa kavuşturulmuş değildir. İnsan fibrosarkoma hücrelerinde *HAS2* geninin aşırı eksprese edildiği ve bu ekspresyon sonucu hyalüronan üretimi arta-

rak tümör hücrelerinin büyümesine sebep olduğu gösterilmiştir (89). Bir başka çalışmada ise hyalüronan reseptörü olan CD44'ü bloke eden antikolar verildiğinde hyalüronanın CD44'e bağlanmasının önlediği ve sonuçta tümör gelişimini ve invazyonu azaldığı görülmüştür (90). Bütün bu yapılan çalışmalar hyalüronanın tümör oluşmasında önemli rollere sahip olacağını gösterse bile düşük moleküler ağırlıklı hyalüronanın damarlaşmayı artırması; buna karşın yüksek moleküler ağırlıklı hyalüronanın tam tersi şekilde damarlaşmayı inhibe etmesi ve ayrıca yüksek seviyede hyalüronan üretiminin tümör gelişimini stimüle ederken aşırı derecede fazla üretimini ise inhibe etmesi bu molekülün bu evrede çok karışık roller aldığına göstergesidir (91-93).

Serum hyalüronan seviyesi orta yaşlı insanlar için 10-100 µg/L'dir (94). Yaşa bağlı olarak bu seviyenin değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Özellikle yenidoğanlarda 700 µg/L iken; daha sonraki yıllarda serumda ölçülen değerleri hızlı bir şekilde düşmeye başlar (95). Plazma hyalüronan seviyesinin ise serumdakinden %5 daha fazla olduğu belirlenmiştir (94).

### SONUÇ

Yukarıda belirttiğimiz çoğunun patolojisi tam aydınlatılmamış hastalıklar yaşam kalitesini düşürmekte ve mortaliteyi artırmaktadır. Hyalüronanın bahsedilen hastalıklarla olan ilişkisinin aydınlatılmasının gerek tedavi, gerekse tanı koyma yönünden önemli olabileceği görünmektedir. Hyalüronan metabolizmasındaki hyalüronan sentezini artıran ya da inhibe eden faktörlerin belirlenmesi ve aynı zamanda farklı moleküler ağırlıktaki hyalüronanların etkilediği sinyal yollarının aydınlatılması ile klinikte hyalüronanın kullanım sahasının artacağı ortada olan bir gerçektir.

### TEŞEKKÜR

Yanında hyalüronan çalışmaları yapmama izin veren Cleveland Clinic Hastanesinden Sayın Dr. Raed Dweik ve çalışmanın ingilizce tashihlerini yapan Sayın Sarah Haserodt'ta yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

### KAYNAKLAR

1. Voelcker V, Gebhardt C, Averbek M, et al. Hyaluronan fragments induce cytokine and metalloprotease upregulation in human melanoma cells in part by signalling via TLR4. *Exp Dermatol* 2008; 17: 100-7.
2. Weigel PH, Frost SJ, LeBoeuf RD, McGary CT. The specific interaction between fibrin (ogen) and hyaluronan: Possible consequences in haemostasis, inflammation and wound healing. *Ciba Found Symp* 1989; 143: 248-61; discussion 261-4, 281-5.
3. Fam H, Bryant JT, Kontopoulou M. Rheological properties of synovial fluids. *Biorheology* 2007; 44: 59-74.
4. Laurent TC, Fraser JR. Hyaluronan. *FASEB J* 1992; 6: 2397-404.
5. Stern R, Maibach HI. Hyaluronan in skin: Aspects of aging and its pharmacologic modulation. *Clin Dermatol* 2008; 26: 106-22.
6. Gröger M, Niederleithner H, Kerjaschki D, Petzelbauer P. A previously unknown dermal blood vessel phenotype in skin inflammation. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 2893-900.
7. Grskovic B, Pollaschek C, Mueller MM, Stuhlmeier KM. Expression of hyaluronan synthase genes in umbilical cord blood stem/progenitor cells. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1760: 890-5.
8. Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB. Hyaluronan: Its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med* 1997; 242: 27-33.
9. Auvinen P, Tammi R, Parkkinen J, et al. Hyaluronan in peritumoral stroma and malignant cells associates with breast cancer spreading and predicts survival. *Am J Pathol* 2000; 156: 529-36.
10. Auvinen PK, Parkkinen JJ, Johansson RT, et al. Expression of hyaluronan in benign and malignant breast lesions. *Int J Cancer* 1997; 74: 477-81.
11. Murray RK, Keeley FW. The extracellular matrix. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (eds). *Harper's Biochemistry*. 25<sup>th</sup> ed. Connecticut, Stamford: Appleton & Lange, 2000: 695-714.
12. Armstrong SE, Bell DR. Measurement of high-molecular-weight hyaluronan in solid tissue using agarose gel electrophoresis. *Anal Biochem* 2002; 308: 255-64.
13. Teder P, Vandivier RW, Jiang D, et al. Resolution of lung inflammation by CD44. *Science* 2002; 296: 155-8.
14. Mehta S, Stewart DJ, Levy RD. The hypotensive effect of L-arginine is associated with increased expired nitric oxide in humans. *Chest* 1996; 109: 1550-5.
15. Franzmann EJ, Schroeder GL, Goodwin WJ, et al. Expression of tumor markers hyaluronic acid and hyaluronidase (HYAL1) in head and neck tumors. *Int J Cancer* 2003; 106: 438-45.
16. Lin K, Bartlett SP, Matsuo K, et al. Hyaluronic acid-filled mammary implants: An experimental study. *Plast Reconstr Surg* 1994; 94: 306-15; discussion 316-7.

17. Itano N, Sawai T, Yoshida M, et al. Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties. *J Biol Chem* 1999; 274: 25085-92.
18. Hascall VC, Majors AK, De La Motte CA, et al. Intracellular hyaluronan: A new frontier for inflammation? *Biochim Biophys Acta* 2004; 1673: 3-12.
19. Aytakin M, Comhair SA, de la Motte C, et al. High levels of hyaluronan in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: 789-99.
20. de la Motte CA, Hascall VC, Drazba J, et al. Mononuclear leukocytes bind to specific hyaluronan structures on colon mucosal smooth muscle cells treated with polyinosinic acid: Polycytidylic acid: Inter-alpha-trypsin inhibitor is crucial to structure and function. *Am J Pathol* 2003; 163: 121-33.
21. Elias JA, Krol RC, Freundlich B, Sampson PM. Regulation of human lung fibroblast glycosaminoglycan production by recombinant interferons, tumor necrosis factor, and lymphotoxin. *J Clin Invest* 1988; 81: 325-33.
22. Pienimäki JP, Rilla K, Fulop C, et al. Epidermal growth factor activates hyaluronan synthase 2 in epidermal keratinocytes and increases pericellular and intracellular hyaluronan. *J Biol Chem* 2001; 276: 20428-35.
23. Stuhlmeier KM, Pollaschek C. Differential effect of transforming growth factor beta (TGF-beta) on the genes encoding hyaluronan synthases and utilization of the p38 MAPK pathway in TGF-beta-induced hyaluronan synthase 1 activation. *J Biol Chem* 2004; 279: 8753-60.
24. Li Y, Rahmanian M, Widström C, et al. Irradiation-induced expression of hyaluronan (HA) synthase 2 and hyaluronidase 2 genes in rat lung tissue accompanies active turnover of HA and induction of types I and III collagen gene expression. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23: 411-8.
25. Tammi R, Pasonen-Seppänen S, Kolehmainen E, Tammi M. Hyaluronan synthase induction and hyaluronan accumulation in mouse epidermis following skin injury. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 898-905.
26. Yung S, Thomas GJ, Davies M. Induction of hyaluronan metabolism after mechanical injury of human peritoneal mesothelial cells in vitro. *Kidney Int* 2000; 58: 1953-62.
27. Papakonstantinou E, Kouri FM, Karakioulakis G, et al. Increased hyaluronic acid content in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2008; 32: 1504-12.
28. Feusi E, Sun L, Sibalic A, et al. Enhanced hyaluronan synthesis in the MRL-Fas (lpr) kidney: Role of cytokines. *Nephron* 1999; 83: 66-73.
29. Kreil G. Hyaluronidases-a group of neglected enzymes. *Protein Sci* 1995; 4: 1666-9.
30. Csoka AB, Frost GI, Stern R. The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes. *Matrix Biol* 2001; 20: 499-508.
31. Csoka AB, Scherer SW, Stern R. Expression analysis of six paralogous human hyaluronidase genes clustered on chromosomes 3p21 and 7q31. *Genomics* 1999; 60: 356-61.
32. Frost GI, Stern R. A microtiter-based assay for hyaluronidase activity not requiring specialized reagents. *Anal Biochem* 1997; 251: 263-9.
33. Csoka AB, Frost GI, Wong T, Stern R. Purification and microsequencing of hyaluronidase isozymes from human urine. *FEBS Lett* 1997; 417: 307-10.
34. Rai SK, Duh FM, Vigdorovich V, et al. Candidate tumor suppressor HYAL2 is a glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored cell-surface receptor for jaagsiekte sheep retrovirus, the envelope protein of which mediates oncogenic transformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4443-8.
35. Lepperdinger G, Strobl B, Kreil G. HYAL2, a human gene expressed in many cells, encodes a lysosomal hyaluronidase with a novel type of specificity. *J Biol Chem* 1998; 273: 22466-70.
36. Lathrop WF, Carmichael EP, Myles DG, Primakoff P. cDNA cloning reveals the molecular structure of a sperm surface protein, PH-20, involved in sperm-egg adhesion and the wide distribution of its gene among mammals. *J Cell Biol* 1990; 111(6 Pt 2): 2939-49.
37. Cherr GN, Meyers SA, Yudin AI, et al. The PH-20 protein in cynomolgus macaque spermatozoa: Identification of two different forms exhibiting hyaluronidase activity. *Dev Biol* 1996; 175: 142-53.
38. Stern R, Jedrzejewski MJ. Hyaluronidases: Their genomics, structures, and mechanisms of action. *Chem Rev* 2006; 106: 818-39.
39. Zhang H, Shertok S, Miller K, et al. Sperm dysfunction in the Rb(6.16)- and Rb (6.15)-bearing mice revisited: Involvement of Hyalp1 and Hyal5. *Mol Reprod Dev* 2005; 72: 404-10.
40. Schnur RE, Herzberg AJ, Spinner N, et al. Variability in the Michelin tire syndrome. A child with multiple anomalies, smooth muscle hamartoma, and familial paracentric inversion of chromosome 7q. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28(2 Pt 2): 364-70.
41. Natowicz MR, Short MP, Wang Y, et al. Clinical and biochemical manifestations of hyaluronidase deficiency. *N Engl J Med* 1996; 335: 1029-33.
42. Brecht M, Mayer U, Schlosser E, Prehm P. Increased hyaluronate synthesis is required for fibroblast detachment and mitosis. *Biochem J* 1986; 239: 445-50.
43. Naor D, Nedvetzki S, Walmsley M, et al. CD44 involvement in autoimmune inflammations: The lesson to be learned from CD44-targeting by antibody or from knockout mice. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1110: 233-47.
44. Evanko SP, Angello JC, Wight TN. Formation of hyaluronan- and versican-rich pericellular matrix is required for proliferation and migration of vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1004-13.
45. Deudon E, Berrou E, Breton M, Picard J. Growth-related production of proteoglycans and hyaluronic acid in synchronous arterial smooth muscle cells. *Int J Biochem* 1992; 24: 465-70.

46. Yang B, Yang BL, Savani RC, Turley EA. Identification of a common hyaluronan binding motif in the hyaluronan binding proteins RHAMM, CD44 and link protein. *EMBO J* 1994; 13: 286-96.
47. Hardwick C, Hoare K, Owens R, et al. Molecular cloning of a novel hyaluronan receptor that mediates tumor cell motility. *J Cell Biol* 1992; 117: 1343-50.
48. Jackson DG, Prevo R, Clasper S, Banerji S. LYVE-1, the lymphatic system and tumor lymphangiogenesis. *Trends Immunol* 2001; 22: 317-21.
49. Karkkainen MJ, Alitalo K. Lymphatic endothelial regulation, lymphoedema, and lymph node metastasis. *Semin Cell Dev Biol* 2002; 13: 9-18.
50. Bono P, Wasenius VM, Heikkilä P, et al. High LYVE-1-positive lymphatic vessel numbers are associated with poor outcome in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 7144-9.
51. Lesley J, Kincade PW, Hyman R. Antibody-induced activation of the hyaluronan receptor function of CD44 requires multivalent binding by antibody. *Eur J Immunol* 1993; 23: 1902-9.
52. Stern R, Asari AA, Sugahara KN. Hyaluronan fragments: An information-rich system. *Eur J Cell Biol* 2006; 85: 699-715.
53. Maxwell CA, Keats JJ, Crainie M, et al. RHAMM is a centrosomal protein that interacts with dynein and maintains spindle pole stability. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 2262-76.
54. Hall CL, Turley EA. Hyaluronan: RHAMM mediated cell locomotion and signaling in tumorigenesis. *J Neurooncol* 1995; 26: 221-9.
55. Mohapatra S, Yang X, Wright JA, et al. Soluble hyaluronan receptor RHAMM induces mitotic arrest by suppressing Cdc2 and cyclin B1 expression. *J Exp Med* 1996; 183: 1663-8.
56. Banerji S, Ni J, Wang SX, et al. LYVE-1, a new homologue of the CD44 glycoprotein, is a lymph-specific receptor for hyaluronan. *J Cell Biol* 1999; 144: 789-801.
57. Toole BP, Ghatak S, Misra S. Hyaluronan oligosaccharides as a potential anticancer therapeutic. *Curr Pharm Biotechnol* 2008; 9: 249-52.
58. Paulsson M, Heinegard D. Noncollagenous cartilage proteins current status of an emerging research field. *Coll Relat Res* 1984; 4: 219-29.
59. McKee CM, Penno MB, Cowman M, et al. Hyaluronan (HA) fragments induce chemokine gene expression in alveolar macrophages. The role of HA size and CD44. *J Clin Invest* 1996; 98: 2403-13.
60. Hill AT, Bayley DL, Campbell EJ, et al. Airways inflammation in chronic bronchitis: The effects of smoking and alpha1-antitrypsin deficiency. *Eur Respir J* 2000; 15: 886-90.
61. Maier LA. Clinical approach to chronic beryllium disease and other nonpneumoconiotic interstitial lung diseases. *J Thorac Imaging* 2002; 17: 273-84.
62. Moreland LW. Intra-articular hyaluronan (hyaluronic acid) and hylans for the treatment of osteoarthritis: Mechanisms of action. *Arthritis Res Ther* 2003; 5: 54-67.
63. Noble PW, Jiang D. Matrix regulation of lung injury, inflammation, and repair: The role of innate immunity. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3: 401-4.
64. Rooney P, Kumar S, Ponting J, Wang M. The role of hyaluronan in tumour neovascularization (review). *Int J Cancer* 1995; 60: 632-6.
65. Reissen R, Wight TN, Pastore C, et al. Distribution of hyaluronan during extracellular matrix remodeling in human restenotic arteries and balloon-injured rat carotid arteries. *Circulation* 1996; 93: 1141-7.
66. Fischer JW, Schror K. Regulation of hyaluronan synthesis by vasodilatory prostaglandins. Implications for atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2007; 98: 287-95.
67. Chen WY, Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen* 1999; 7: 79-89.
68. King SR, Hickerson WL, Proctor KG. Beneficial actions of exogenous hyaluronic acid on wound healing. *Surgery* 1991; 109: 76-84.
69. Balazs EA, Bland PA, Denlinger JL, et al. Matrix engineering. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1991; 2: 173-8.
70. Adina B. The influence of viscoelastic substances on the corneal endothelium during cataract surgery by phacoemulsification. *Ophthalmologia* 2008; 52: 84-9.
71. Balazs EA. Hyaluronan as an ophthalmic viscoelastic device. *Curr Pharm Biotechnol* 2008; 9: 236-8.
72. Graue EL, Polack FM, Balazs EA. The protective effect of Na-hyaluronate to corneal endothelium. *Exp Eye Res* 1980; 31: 119-27.
73. Olczyk P, Komosińska-Vassev K, Winsz-Szczołka K, et al. Hyaluronan: Structure, metabolism, functions, and role in wound healing. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2008; 62: 651-9.
74. Lydatakis H, Hager IP, Kostadelou E, et al. Non-invasive markers to predict the liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2006; 26: 864-71.
75. Schiavon LL, Narciso-Schiavon JL, Carvalho Filho RJ, et al. Serum levels of YKL-40 and hyaluronic acid as non-invasive markers of liver fibrosis in haemodialysis patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2008; 15: 666-74.
76. Bolarin DM, Azinge EC. Biochemical markers, extracellular components in liver fibrosis and cirrhosis. *Nig Q J Hosp Med* 2007; 17: 42-52.
77. Khan JA, Khan FA, Dilawar M, et al. Serum hyaluronic acid as a marker of hepatic fibrosis. *J Coll Physicians Surg Pak* 2007; 17: 323-6.
78. Guehot J, Laudat A, Loria A, et al. Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-terminal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. *Clin Chem* 1996; 42: 558-63.

79. Chen HC, Shah S, Stabler TV, et al. Biomarkers associated with clinical phenotypes of hand osteoarthritis in a large multigenerational family: The CARRIAGE family study. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16: 1054-9.
80. Kato S, Yamada H, Terada N, et al. Joint biomarkers in idiopathic femoral head osteonecrosis: Comparison with hip osteoarthritis. *J Rheumatol* 2005; 32: 1518-23.
81. Balazs EA, Denlinger JL. Clinical uses of hyaluronan. *Ciba Found Symp*, 1989; 143: 265-75; discussion 275-80, 281-5.
82. D'Souza M, Datta K. Studies on the affinity of hyaluronic acid binding protein to glycosaminoglycans. *Biochem Int* 1986; 13: 89-100.
83. Fukuda K, Dan H, Takayama M, et al. Hyaluronic acid increases proteoglycan synthesis in bovine articular cartilage in the presence of interleukin-1. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 277: 1672-5.
84. Asari A, Miyauchi S, Matsuzaka S, et al. Molecular weight-dependent effects of hyaluronate on the arthritic synovium. *Arch Histol Cytol* 1998; 61: 125-35.
85. Gotoh S, Onaya J, Abe M, et al. Effects of the molecular weight of hyaluronic acid and its action mechanisms on experimental joint pain in rats. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 817-22.
86. Yoshizaki A, Iwata Y, Komura K, et al. Clinical significance of serum hyaluronan levels in systemic sclerosis: Association with disease severity. *J Rheumatol* 2008; 35: 1825-9.
87. Freitas JP, Filipe P, Emerit I, et al. Hyaluronic acid in progressive systemic sclerosis. *Dermatology* 1996; 192: 46-9.
88. Herman MP, Svatek RS, Lotan Y, et al. Urine-based biomarkers for the early detection and surveillance of non-muscle invasive bladder cancer. *Minerva Urol Nefrol* 2008; 60: 217-35.
89. Kosaki R, Watanabe K, Yamaguchi Y. Overproduction of hyaluronan by expression of the hyaluronan synthase Has2 enhances anchorage-independent growth and tumorigenicity. *Cancer Res* 1999; 59: 1141-5.
90. Guo Y, Ma J, Wang J, et al. Inhibition of human melanoma growth and metastasis in vivo by anti-CD44 monoclonal antibody. *Cancer Res* 1994; 54: 1561-5.
91. Rahmanian M, Pertoft H, Kanda S, et al. Hyaluronan oligosaccharides induce tube formation of a brain endothelial cell line in vitro. *Exp Cell Res* 1997; 237: 223-30.
92. Montesano R, Kumar S, Orci L, Pepper MS. Synergistic effect of hyaluronan oligosaccharides and vascular endothelial growth factor on angiogenesis in vitro. *Lab Invest* 1996; 75: 249-62.
93. Itano N, Sawai T, Atsumi F, et al. Selective expression and functional characteristics of three mammalian hyaluronan synthases in oncogenic malignant transformation. *J Biol Chem* 2004; 279: 18679-87.
94. Engström-Laurent A, Laurent UB, Lilja K, Laurent TC. Concentration of sodium hyaluronate in serum. *Scand J Clin Lab Invest* 1985; 45: 497-504.
95. Lindquist U, Laurent TC. Serum hyaluronan and amino-terminal propeptide of type III procollagen: Variation with age. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52: 613-21.