

## مطالعه هیستوشیمی و لکتین هیستوشیمی صلبیه و مشیمیه در طی روند تکامل چشم

علیرضا

طا هره طلایی خوزانی (D.Ph.D.)

محمد رضا عرب \*

فاضل (Ph.D.) \*\*\*

### چکیده

**سابقه و هدف :** صلبیه و مشیمیه به عنوان لایه‌های خارجی و میانی چشم از مزانشیم اطراف جام بینایی منشأ می‌گیرند که در تکامل آن سلول‌های ستیغ عصبی نقش ارزنده‌ای ایفاء می‌کنند. بخش عمدات از سیگنال‌های هدایت کننده روند تکامل در چشم، در واقع اجزایی از ماتریکس خارج سلولی و یا گلیکوکوتزوگهای سطح سلول می‌باشدند. هدف از این مطالعه شناسایی اجزا ماتریکس خارج سلولی و ترکیبات قندی سطح سلول به هنگام تکامل این لایه‌ها در چشم است.

**مواد و روش‌ها :** جنین‌های روزهای یازدهم تا بیستم تولد و نوزادان یک تا پانزده روزه موش صحرابی (Rat) جمع‌آوری شدند. مقاطع بریده شده توسط رنگ‌آمیزی‌های هیستوشیمی و تکنیک لکتین هیستوشیمی (PNA, BSA1-B4, S/PNA) مورد مطالعه قرار گرفتند و بر اساس شدت رنگ‌آمیزی درجه‌بندی شدند.

**یافته‌ها :** آزمون آماری Mann-Whitney ، اختلاف معنی داری را میان روزهای مورد مطالعه تنها برای ترکیبات قندی خشی و گلیکوکوتزوگلیکان‌های اسیدی کربوکسیله نشان داد ( $P < 0.05$ ). به علاوه مزانشیم اطراف جام بینایی به شدت با لکتین BSA1-B4 واکنش نشان داد و بدین ترتیب حضور قند انتهایی D-Gal در سلول‌های مزانشیمی این ناحیه نشان داده شد. واکنش مزانشیم فوق به لکتین PNA برای قند انتهایی D-Gal منفی بود اما پس از به کارگیری روش هضم آنزیمی سیالیداز، بعضی از سلول‌های مزانشیمی به این لکتین با شدت کم پاسخ دادند. بدین ترتیب وجود اسید سیالیک و قند انتهایی Gal/GalNac در این سلول‌ها نشان داده شد.

**استنتاج :** به نظر می‌سد مجموعه تغییرات ماتریکس خارج سلولی و قندهای انتهایی سطح سلول، بخشی از وقایع مسؤول کنترل روند ریخت زایی در جنین به هنگام تشکیل چشم می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی :** صلبیه، مشیمیه، چشم-رشد و تکامل، لکتین‌ها

### مقدمه

استقرار دارد و در تکامل آن سلول‌های ستیغ عصبی نقش بسیار ارزنده‌ای دارند<sup>(۱)</sup>. تکامل چشم در مهره داران

صلبیه و مشیمیه به عنوان لایه‌های میانی و خارجی چشم از مزانشیمی منشأ می‌گیرند که اطراف جام بینایی

✉ زاهدان-دانشکده پزشکی

\* استادیار بافت شناسی و جنین شناسی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

\*\* استادیار بافت شناسی و جنین شناسی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

\*\*\* دانشیار آنatomی و بیولوژی سلولی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

مقاومت فیزیولوژیک چشم برای جذب مایع زلایله در شبکه ترابکولار (Trabecular meshwork) مورد تأکید قرار گرفته است<sup>(۹)</sup>. از طرف دیگر، تغییرات ماتریکس خارج سلولی و گلیکوکونزوگههای سطح سلول در بعضی از بیماریهای چشم مثل جدادشدهای شبکیه (Cataract) و آب مروراید (Retinal detachment) نشان داده شده است<sup>(۱۰)</sup>.

هدف مالازاین تحقیق شناسایی قندهای انتهایی سطح سلول و ماتریکس خارج سلولی با تکنیک فوق العاده دقیق لکتین هیستوشیمی و تعیین همزمانی حضور این ترکیبات با وقایع مورفوژئیک تکاملی و ترکیبات ماتریکس خارج سلولی در این دو لایه از چشم بود.

## مواد و روش‌ها

۵۰ سر موش بزرگ از تزاد Whistar انتخاب شدند. پس از جفت‌گیری، مشاهده پلاک واژینال به عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد. حیوانات در شرایط استاندارد از نظر درجه حرارت (۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد)، دسترسی آزاد به آب و مواد غذایی، رطوبت و نور مناسب (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) قرار گرفتند. موش‌های حامله بر اساس روز حاملگی از جاذبهای تایست جنینی تحت شرایط بیهوشی عمیق با کلروفورم که منجر به مرگ حیوان می‌شد باز شدند. جنین‌ها با دقت از جفت و پرده‌های جنینی جدا شدند. آنگاه در محلول‌های فیکساتیو B4G ، کاربونی و بوئن قرار گرفتند و مطابق روش معمول در بافت‌شناسی پاساژ داده شدند. بلوک‌های پارافینی تهیه شده به صورت فرونتال، سازیتال و عرضی با ضخامت ۵ تا ۶ میکرومتر و به صورت سریال (Serial section) بریده شدند و رنگ آمیزی‌های هماتوکسیلین-ائوزین، آلشین بلو در pH=۱ ، pH=۲/۵ و pH=۵/۸ به روش تغییر بحرانی

محتاج میان کنش‌های (Interactions) کاملاً تنظیم شده‌ای میان اکتودرم سطحی، نورواپی تیلوم پروزنسفالون و مزانشیم میان آنها است. یکی از مولکول‌هایی که هدایت این میان کنش‌ها را به عهده دارد فاکتورهای رشد از جمله فاکتور رشد فیبروبلاستی [Fibroblast Growth Factor (FGF)] و رسپتور مخصوص آن می‌باشد<sup>(۲)</sup>.

بخش عمده‌ای از سیگنال‌های هدایت کننده روند تکامل در چشم به واقع اجزایی از ماتریکس خارج سلولی [Extracellular Matrix (ECM)] هستند که به صورت غشاء پایه و یا گلیکوپروتئین‌های اطراف سلول سازمان‌دهی شده‌اند. برخی از این مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی به عنوان مولکول‌های متصل کننده سلول به ماتریکس خارج سلولی (Adhesive ECM) و برخی به عنوان مولکول‌های دفعی (Repulsive) عمل می‌کنند. کلژن‌ن تیپ I ، ترمبوسپوندین و لامینین از مولکول‌های چسباننده و کندرولایتین سولفات از مولکول‌های دفعی هستند<sup>(۳)</sup>. به علاوه، گلیکوکونزوگههای سطح سلول و مخصوصاً بعضی از قندهای انتهایی آنها مثل فوکوز، اسید سیالیک و گالاکتوز نقش بسیار ارزنده‌ای در هدایت روند وقایع مورفوژنز به هنگام ریخت زایی دارند<sup>(۴،۵)</sup>. همچنین اهمیت دیگر عناصر رشته‌ای ماتریکس خارج سلولی مثل بخش میکروفیبریلار رشته‌های الاستیک در کنترل میزان جریان خون در چشم نشان داده شده است<sup>(۷)</sup>. به علاوه اهمیت ماتریکس خارج سلولی در فیزیولوژی طبیعی چشم و بینایی نیز مورد تأکید قرار گرفته است. آنچنان‌که شفافت محیط‌های شفاف چشم مثل قرنیه وابسته به تکامل صحیح اجزا ماتریکس خارج سلولی و آرایش و پیزه رشته‌های کلژن در آن است<sup>(۸)</sup>. همچنین اهمیت حضور اسید هیالورونیک به عنوان مولکول تنظیم کننده

روش هضم آنزیمی سیالید از و لکتین PNA . آنزیم سیالیداز (شرکت سیگما) در بافر استات با غلظت  $0.2\text{ مولار}$  و  $\text{pH}=5$  به میزان  $0.1\text{ واحد}$  در میلی لیتر رقیق شد. مقاطع به مدت  $18\text{ تا }24$  ساعت در انکوپاتور  $37^\circ\text{C}$  درجه سانتی گراد در مجاورت آنزیم و سپس مطابق روش گفته شده در معرض لکتین PNA قرار گرفتند<sup>(5)</sup>.

روش‌های آماری . مقاطع رنگ‌آمیزی شده بر اساس شدت رنگ‌آمیزی به صورت مجزا و دوسوکور (Double blind) توسط دو نفر رتبه‌بندی شدند و آنگاه جدول‌های رنگ‌آمیزی تهیه و توسط آزمون Mann-Whitney تجزیه و تحلیل شدند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: رتبه‌بندی لام‌ها براساس شدت رنگ‌آمیزی

رتبه	شدت رنگ‌آمیزی
-	رنگی دیده نشد
+-	شدت رنگ بسیار کم
+	شدت رنگ کم
++	شدت رنگ متوسط
+++	شدت رنگ زیاد

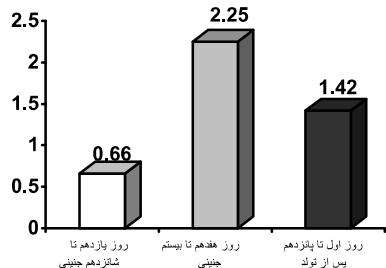
## یافته‌ها

در روزهای ۱۱ تا ۱۴ جنینی، سلول‌های مزانشیمی اطراف جام بینایی دارای اشکال سلولی متفاوت بوده و فاصله سلولی میان آنها نیز زیاد می‌باشد. این فضاهای سرشار از ماتریکس خارج سلولی بوده و به خوبی قابل تشخیص می‌باشند. با تکامل بیشتر حباب عدسی و شبکیه تراکم سلولی در این مزانشیم افزایش می‌یابد و با ایجاد فضاهایی در لایای این سلول‌ها در مزانشیم زیر قرنیه، اتاقک قدامی چشم شکل می‌گیرد و فورنیکس‌ها نمایان

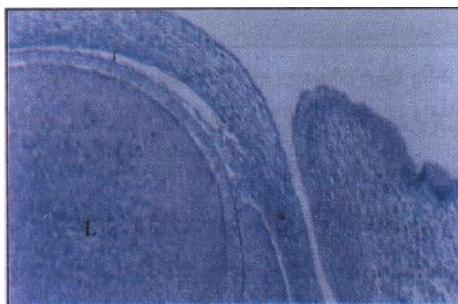
غلظت منیزیم در چهار غلظت، پاس، اورسین، تری‌کروم و تولوییدین بلو در بافر ورنول با  $\text{pH}=4/5$  انجام شد. مقاطع براساس شدت رنگ‌آمیزی درجه‌بندی شدند(۱۲،۱۱) (جدول شماره ۱). در صورت مشاهده هرگونه ناهنجاری‌های ظاهری، نمونه از مسیر مطالعه حذف شد. از آنجا که مطالعه بر اساس درجه‌بندی شدت رنگ‌آمیزی لام‌ها بود، لذا روش کار برای تمام نمونه‌ها از نظر محلول‌ها، زمان و شیستشوی متعاقب رنگ آمیزی یکسان بود. پس از رنگ‌آمیزی، آب‌گیری و شفاف کردن لام‌ها به طور یکسان مطابق معمول در بافت‌شناسی انجام شد.

لکتین هیستوشیمی . لکتین PNA و BSA1-B4 کوئنزوگه شده با Horseradish Peroxides (HRP) (شرکت سیگما) در بافر فسفات  $0.1\text{ مولار}$  در  $\text{pH}=6/8$  برای لکتین BSA1-B4 که محتوى  $0.02\text{ گرم}$  کلرید منیزیم و  $0.02\text{ گرم}$  کلرید منگنز و  $0.05\text{ گرم}$  کلرید کلسیم بود، به میزان  $10\text{ میکروگرم}$  به ازای هر میلی لیتر بافر رقیق گردید. پس از آبدهی مقاطع به روش معمول و حذف پیگمان کلریدجیوه، برای خشند کردن پراکسیداز درون بافتی به مدت  $5\text{ تا }10\text{ دقیقه}$  در محلول  $0.01\text{ آب اکسیژنه}$  در متابول قرار گرفتند. آنگاه برش‌ها به مدت دو ساعت در اتاقک مرطوب با لکتین PNA رنگ‌آمیزی شدند و سپس در محلول Diaminobenxidine (DAB) به میزان  $0.03\text{ گرم}$  DAB و  $200\text{ میکرولیتر آب اکسیژنه}$  به ازای هر صد میلی لیتر بافر به مدت  $5\text{ تا }10\text{ دقیقه}$  قرار گرفتند. برای توقف واکنش DAB مقاطع به مدت  $5\text{ تا }10\text{ دقیقه}$  در آب شستشو شدند. برای رنگ زمینه از آلشین بلو با  $\text{pH}=2/5$  استفاده گردید. سپس مقاطع مطابق معمول آب‌گیری و چسبانده شدند(۱۲،۶،۵،۴).

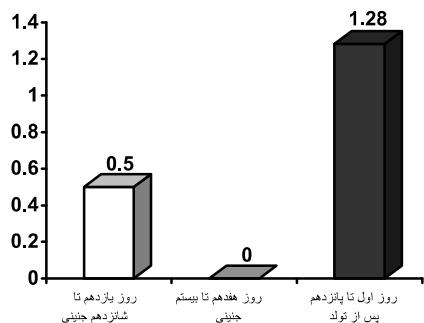
تصویر میکروسکوپی شماره ۱: نمونه روز ۱۱ جنینی، واکنش سلول های عمق کیسه ملتجمه ای، کپسول عدسي و غشاء بروخ نشان داده شده است. تراکم مزانشیم اطراف جام بینایی به خوبی نمایان است. رنگ آمیزی پاس-آلشین بلو  $\times 400$ ؛ شبکه (R) و عدسي (L).



نمودار شماره ۱: مقایسه شدت رنگ آمیزی مقاطعه برای لایه میانی چشم در روزهای مورد مطالعه برای ترکیبات قندی خنثی، \*  $P<0.05$



تصویر میکروسکوپی شماره ۲: نمونه روز ۱۶ جنینی واکنش منطقه لیمبوس (x) و همچنین کپسول عدسي نشان داده شده است رنگ آمیزی آلشین بلو  $\times 400$ ؛ شبکه (r) و عدسي (L).



نمودار شماره ۲: مقایسه شدت رنگ آمیزی مقاطعه برای لایه میانی چشم در روزهای مورد مطالعه برای ترکیبات اسیدی کربوکسیله، \*  $P<0.01$  \*\*  $P<0.04$

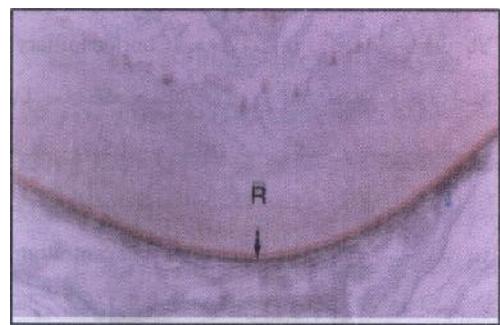
می گردد. در روزهای ۱۸ تا ۲۰ جنینی با افزایش بیشتر تراکم مزانشیم و رسوب عناصر رشته ای ماتریکس خارج سلولی، صلبیه نمای مشخص تری پیدا می کند؛ در این زمان پلک ها کاملاً شکل گرفته اند. پس از تولد، با رسوب بیشتر عناصر رشته ای ماتریکس خارج سلولی که ابتدا در اطراف اپیتلیوم پیگمانه مشاهده می شدند، صلبیه نمای بالغین را پیدا می کند. در این روزها در کوروئید، غشاء بروخ و لایه کوریوکاپیلاری (Choriocapillary) به صورت مویر گهایی با قطر بالا قابل ملاحظه هستند. در روز ۱۱ جنینی وجود اسید هیالورونیک و به میزان کمتر کندرواتین سولفات در مزانشیم با رنگ آمیزی CEC2 و CEC1 تأیید شد. در حالی که ترکیبات هپارین سولفات در مزانشیم با رنگ آمیزی های CEC4 و CEC3 ملاحظه نشد. از روزهای ۱۵ جنینی به بعد نتیجه رنگ آمیزی CEC4 و CEC3 برای ردیابی هپارین و کراتان سولفات در مشیمیه و صلبیه مثبت بود. ترکیبات قندی کربوکسیله و خنثی در این روزها برای صلبیه مثبت بود. در حالی که در این زمان قرنیه برای ترکیبات اسیدی سولفاته مثبت بود. نتیجه رنگ آمیزی تولوییدین بلو برای ردیابی ترکیبات با قابلیت متاکرومازی در روزهای ۱۶ تا ۱۸ جنینی منفی بود (نمودار شماره ۱ و ۲ و تصاویر میکروسکوپی شماره ۱ و ۲).





تصویر میکروسکوپی شماره ۴: نمونه روز ۸ بعد از تولد. واکنش صلیبی و کورویید به لیکتین B4-BSA1 نشان داده است (B4-BSA1  $\times 400$ ).

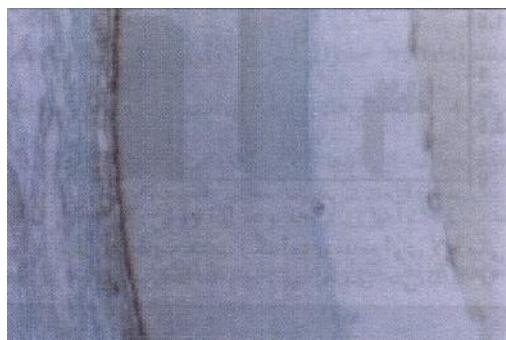
پس از به کارگیری روش S/PNA بعضی از سلول‌های مزانشیمی اطراف جام بینایی به لکتین از خود واکنش نشان دادند. در روز نوزدهم جنینی واکنش سطح پلکی کیسه ملتجمه‌ای نسبت به سطح بولبار آن بسیار شدیدتر بود (تصویر میکروسکوپی شماره ۵).



تصویر میکروسکوپی شماره ۵: نمونه روز ۶ پس از تولد. افزایش در واکنش لایه‌های صلیبی و مشیمیه پس از کاربرد آنزیم سیالیداز مشاهده نشد (S/PNA  $\times 200$ ).

در تکامل لایه میانی چشم از نظر ترکیبات قندی خنثی میان گروه‌های مورد مطالعه در روزهای ۱۳ تا ۱۶

در روز ۱۱ جنینی واکنش مزانشیم برای ردیابی قند ۱۲ Gal/Gal Nac با لکتین PNA منفی بود. در روزهای ۱۶ جنینی تنها ابی تلیوم فورنیکس‌ها و مزانشیم اطراف آن قدری به لکتین از خود واکنش نشان دادند. در روز ۱۶ جنینی هیچ واکنشی به لکتین در صلیبیه و مشیمیه ملاحظه نشد. مجدداً در روز ۲۰ جنینی واکنش ضعیفی به لکتین آن هم در کیسه ملتجمه دیده شد (تصویر میکروسکوپی شماره ۳).



تصویر میکروسکوپی شماره ۳: نمونه روز ۱۹ جنینی. واکنش اندوتلیوم عروق لایه کورویوکاپلاری به PNA با شدت کم و غشاء بروخ به آلشین بلونشان داده شده است (لکتین  $\times 200$ ).

پس از تولد، واکنش فورنیکس‌ها و کیسه ملتجمه‌ای نیز کاهش پیدا کرد و در کورویید و صلیبیه هم هیچ پاسخی مشاهده نگردید. تا روز ۱۱ تا ۱۵ پس از تولد مجدداً واکنش ضعیفی به لکتین در صلیبیه و مشیمیه دیده شد. لکتین B4-BSA1 برای ردیابی قند انتهایی D-GaL واکنش شدیدی را با سلول‌های مزانشیمی از خود نشان داد و با افزایش سن جنین از شدت واکنش به این لکتین کاسته شد (تصویر میکروسکوپی شماره ۴).

در تکامل صلبیه از نظر تمام ترکیبات مورد مطالعه اختلاف معنی داری میان روزهای مورد مطالعه دیده نشد.

دارد(۱۲). نتایج این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری میان ترکیبات دیگر ماتریکس خارج سلولی در روزهای مورد مطالعه وجود ندارد ولی حضور آنها را تأیید نمود و به نظر می رسد که این ترکیبات نقش خود را از طریق واکنش با دیگر اجزا اعمال می کنند.

ردیابی ترکیبات ماتریکس خارج سلولی در این تحقیق نشان داد که اسیدهیالورونیک نقش مهمی در پرکردن فضاهای بین سلولی بافت مزانشیم در روزهای ۱۱ تا ۱۴ جنبی داشته و به خصوص غلظت آن در ناحیه لیمبوس بسیار بالا می باشد. به نظر می رسد این ترکیب مهم ماتریکس خارج سلولی به عنوان یک مولکول بزرگ پلی آئینیک با نگهداری مقدار زیادی آب و املاح بستر مناسبی را برای مهاجرت و تقسیم سلولها که پدیده های مهمی در فرآیند تمایز چشم می باشند، فراهم می آورد(۹،۸).

از آنجا که اهمیت ترکیبات خارج سلولی در برخی بیماری های اکتسابی چشم مثل کاتاراکت، گلوكوم و جدا شدگی های شبکیه نشان داده شده است (۱۵،۱۶) و همچنین اهمیت تکاملی ترکیبات سطح سلول در اعراضی مثل تیموس، قلب، چشم و سلول های اولیه جنسی مورد تأکید قرار گرفته است (۱۷،۱۸)، به نظر می رسد که شناسایی توزیع طبیعی ترکیبات ماتریکس خارج سلولی و ترکیبات قندی سطح سلول از نظر میزان و زمان ظهور آنها در چشم می تواند راه را برای درک نقش احتمالی

جنینی و روزهای ۱ تا ۱۵ تولد اختلاف معنی داری مشاهده گردید(P<0.05) (نمودار شماره ۱).

به علاوه از نظر میزان گلیکوز آمینو گلیکان های اسیدی کربوکسیله میان روزهای ۱۱ تا ۱۶ جنبی و روزهای ۱ تا ۱۵ پس تولد(P<0.01) و همچنین روزهای ۱۷ تا ۲۰ جنبی و روزهای ۱ تا ۱۵ پس از تولد(P<0.04) اختلاف معنی داری دیده شد (نمودار شماره ۲).

## بحث

میان کنش های (Interactions) سلول - سلول و سلول - ماده خارج سلولی زمینه ساز اطلاعات ضروری و مهمی برای کنترل مورفوژنز، تعیین سرنوشت سلولی، مهاجرت های سلولی، و حتی مرگ سلولی می باشند. واسطه میان کنش های سلولی فوق، اجزایی از ماتریکس خارج سلولی و قندهای انتهایی ترکیبات سطحی سلول هستند که توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است (۱۳). مطالعه حاضر اختلاف میان ترکیبات قدی خنثی و ترکیبات اسیدی سولفاته را در روزهای مورد مطالعه نشان داد. به نظر می رسد که این اختلاف غلظت اجزا ماتریکس خارج سلولی، زمینه ساز و قایع ریخت زایی تشکیل کوروئید و صلبیه در چشم هستند. D-Gal به علاوه، تغییر در میزان قندهای انتهایی Gal/GalNac در روزهای مورد مطالعه نیز نشان می دهد که حضور یا عدم حضور این قندها انعکاسی از تغییرات مورفوژنیک سلول ها در طی تکامل این دولایه از چشم می باشند و این امر بر همزمانی تغییرات ماتریکس خارج سلولی و پروتئین های سطح سلول تأکید دارد. تغییرات در میزان سلول ها و رسوب عناصر رشته ای در صلبیه و ایجاد فضاهای خارج سلولی در مزانشیم برای تشکیل اطاق قدامی چشم در حقیقت Werb (۱۹۹۷) نشان داده است که تغییر در ماتریکس خارج سلولی هدایت روند مورفوژنز در تکامل را به عنده

بازبینی مقاله و همچنین پرسنل خانه حیوانات بیمارستان قائم (عج) و بخش جستجوی مقالات معاونت پژوهشی و آزمایشگاه هیستوشیمی- جنین شناسی مخصوصاً سرکار خانم دکتر آرونده، جناب آقای دکتر جلالی و سرکارخانم متعدد و پرسنل آزمایشگاه ژنتیک دانشکده پزشکی مشهد صمیمانه تشکر نمایند.

بیشتر این ترکیبات در ناهنجاری‌های مادرزادی چشم هموار نماید.

**سپاسگزاری**  
نویسنده‌گان مقاله بر خود واجب می‌دانند از همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ریاست محترم دانشکده پزشکی مشهد، هلال احمر جمهوری اسلامی ایران، دکتر شیراحمد سارانی برای

#### فهرست منابع

1. فاضل علیرضا. مطالعات هیستوشیمیایی ترکیبات قندی سطح سولول لنفوسيت‌های T در روند تکامل جنینی. *مجله دانشکده پزشکی مشهد*. ۱۳۷۴؛ ۲۸ تا ۴۹: صفحات ۲۲ تا ۲۸.
2. Alles AJ, AR Fazel, S.S Spicer. Distribution of glycoconjugate in the optic vesicle and optic cup. *Anat. Embrol.* 1990; 182(6): 611-16.  
the embryonic chick retina. *Inv. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1997;37(6):1084- 96.
3. Buse E,H. Seifert. Glycoconjugate expression during early mouse oculogenesis. *Histochem. J.* 1988; 30(11): 819-27.
4. Drury R.A.B. Carleton histological technique. 5<sup>th</sup> ed. London: Oxford University Press; 1980, P. 221-260, 36-37.
5. Fazel A.R. Schulte B.A, Thompson R.P, Spicer S.S. Presence of a unique glycoconjugate on the surface of rat primordial germ cells during migration. *Cell differentiation.* 1987; 21(3): 199-211.
6. Fazel A.R, H. Sumida, B.A Schulte, Thompson R.P. Lectin histochemistry of the embryonic heart: fucose specific lectin binding sites in developing rats and chicks. *Am.J.Anat.* 1989; 184(1): 76-84.
7. Fazel A.R, B.A Schulte, S.S Spicer. Glycoconjugate unique to migrating primordial germ cells differs with genera. *Anat.Rec.* 1990; 228(2): 177-84.
8. Gervin D.B, M.C Gordon, D.O Clegg. Temporal and spatial regulation of integrin vitronectin receptor m-RNAs in

12. Knepper P.A, W Goossens, M Hvizzd, P.F Palmberg. Glycosaminoglycans of the human trabecular meshwork in primary open angle glaucoma. *Inv. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1996;37(7):1360-66.
13. Korte GE, E Manche. Microfibril-microvessel connection in the uvea and optic nerve of the mammalian eye. *Act. Anat.* 1991; 142(1): 49-56.
14. Lerner LE, JR Polansky, EL Howes, R Stern. Hyaluronan in the human trabecular meshwork. *Inv. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1997; 38(6): 1222-27.
15. Ljubimov AV, RE Burgeson, RO Butowsk, J.R Couchman, Mu RR. Ninomiya Y, et al. Extracellular matrix alterations in human corneas with bullous keratopathy. *Ophthalmol. Vis. Sci.* 1996; 37(6): 997-1006.
16. Werb Z. ECM and cell surface proteolysis: regulation of cellular ecology. *Cell.* 1997; 91(4): 439-42.
17. Williams PL, R Warwick, M Dyson. Grays aratomy. 37<sup>th</sup> ed. New York: Churchill Livingstone; 1989.
18. Yue B.Y. The extracellular matrix and its modulation in the trabecular meshwork. *Surg. Ophthalmol.* 1996; 40(5): 379-89.