

## СОДЕРЖАНИЕ

---

Список сокращений .....	5
Введение. Молекулярная косметология — инновационное направление на маршрутах красивого долголетия .....	7
<b>ОЧЕРК 1. Методологические аспекты молекулярной косметологии:</b>	
<b>конфокальная лазерная сканирующая микроскопия .....</b>	<b>10</b>
1.1. Принцип работы современного конфокального микроскопа .....	11
1.2. Светлопольная микроскопия .....	16
1.3. Флуоресцентные красители .....	16
1.4. Аутофлуоресценция .....	17
1.5. Z-серия и трехмерные изображения .....	18
1.6. Получение четырехмерных изображений .....	19
1.7. Визуализация живой клетки .....	20
1.8. Протокол работы на конфокальном люминесцентном сканирующем микроскопе .....	25
1.9. Подготовка образца .....	30
1.10. Фиксация материала .....	32
1.11. Предотвращение неспецифического связывания антител .....	32
1.12. Раствор для отмывки образцов .....	33
<b>ОЧЕРК 2. Кожа: структурно-функциональная организация, клеточная биология и молекулярный пейзаж .....</b>	<b>34</b>
2.1. Биология развития и эмбриогенез кожи .....	34
2.2. Эпидермис .....	37
2.2.1. Кератиноциты .....	42
2.2.2. Меланоциты .....	52
2.2.3. Клетки Лангерганса .....	57
2.2.4. Лимфоциты .....	63
2.2.5. Клетки Меркеля .....	67
2.2.6. Функциональные эпидермальные единицы ...	74
2.3. Дерма .....	75
2.3.1. Дермально-эпидермальное соединение .....	75
2.3.2. Клетки дермы .....	79

2.3.2.1. Фибробласты .....	81
2.3.2.2. Тучные клетки (мастоциты) .....	84
2.3.2.3. Макрофаги дермы (гистиоциты) .....	89
2.4. Внеклеточный матрикс .....	90
2.5. Придатки кожи .....	94
2.6. Подкожная жировая клетчатка, иннервация и кровоснабжение кожи .....	104
<b>ОЧЕРК 3. Функции кожи. Нейроиммуноэндокринные коммуникации при ее старении (в соавторстве с И. О. Смирновой) ...</b>	<b>109</b>
3.1. Нейроиммуноэндокринная регуляция функций кожи .....	110
3.2. Морфофункциональные аспекты старения кожи ...	121
3.3. Молекулярные маркеры старения кожи .....	132
<b>ОЧЕРК 4. Гиалуроновая кислота, колаген, эластин в межклеточном матриксе дермы (в соавторстве с П. Л. Ивановым) .....</b>	<b>144</b>
4.1. Структура, биосинтез и биодegradация, клеточные рецепторы гиалуронана .....	145
4.1.1. Расщепление гиалуронана гиалуронидазами ...	148
4.1.2. Рецепторы гиалуронана .....	150
4.2. Семейство коллагеновых белков .....	153
4.3. Роль эластина в структурах межклеточного матрикса дермы .....	161
4.4. Нейроэндокринные биомаркеры старения кожи в молекулярной косметологии (в соавторстве с В. О. Поляковой, А. О. Дробинцевой) .....	166
<b>ОЧЕРК 5. Клинические аспекты молекулярной косметологии (в соавторстве с И. К. Жуковой) .....</b>	<b>181</b>
Заключение .....	188
Рекомендуемая литература .....	189

## Очерк 2

**Кожа: структурно-функциональная организация, клеточная биология и молекулярный пейзаж****2.1. Биология развития и эмбриогенез кожи**

Кожа является самым крупным органом человека. Расположение на границе с внешней средой и функциональная связь со всеми другими органами и системами организма определяют широкое разнообразие выполняемых кожей функций.

Кожа состоит из эпидермиса с придаточными структурами, дермы и подкожной жировой клетчатки. В ее образовании принимает участие большое количество разнообразных по гистогенетическому происхождению и выполняемым функциям клеток.

Тесные взаимодействия клеток кожи, опосредованные анатомическими контактами, секрецией ими короткоранговых пептидных мессенджеров — цитокинов, хемокинов, интегринов и молекул адгезии, а также пептидных гормонов и биогенных аминов — обеспечивают структурное и функциональное единство различных элементов и структур кожи.

Разные компоненты кожи имеют различное происхождение. Эпидермис и придаточные структуры развиваются из эктодермы, а собственно кожа и подкожная клетчатка — из мезенхимы.

Ранний эмбрион покрыт одним слоем эктодермальных клеток, формирующимся к концу гаструляции — на 14-е сутки эмбриогенеза. Базальная поверхность эктодермальных клеток контактирует с тонкой базальной мембраной, а на их апикальной поверхности имеются многочисленные ворсинки.

Цитоплазма клеток содержит органеллы, характерные для малодифференцированных клеток, гранулы гликогена и кератиновые филаменты, образованные кератинами с низкой молекулярной массой и сосредоточенные преимущественно

в базальном отделе. В начале второго месяца развития в формирующемся эпидермисе различают два слоя — базальный слой клеток кубической формы и поверхностный (перидерма) (рис. 8), представленный плоскими кератиноцитами.

До 3-го месяца эпидермис утолщается за счет увеличения объема клеток. Кроме того, в эпителиоцитах формируются десмосомы и появляются кератины, свойственные зрелому эпидермису. В это же время происходит закладка придатков кожи.

Позднее, на 4-м месяце, между перидермой и базальными клетками формируется промежуточный слой. Его клетки интенсивно делятся, количество пластов быстро увеличивается. Формирование многослойного эпидермиса происходит неравномерно на разных участках покрова: начинается с боковой и передней поверхностей и в последнюю очередь образуется на спине.

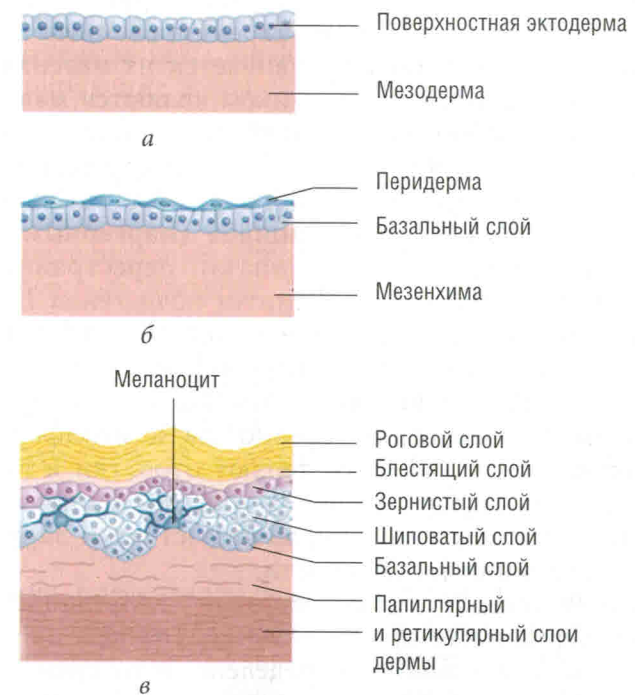


Рис. 8. Эмбриональное развитие кожи: а — 4 нед.; б — 8 нед.; в — 40 нед. (модификация по Moore K. L. et al., 2013)



К 6-му месяцу происходит involуция перидермы, а эпидермис практически полностью формируется. В нем различают базальный, шиповатый слой из 2–3 рядов клеток, зернистый слой с хорошо развитым кератогиалином и 5–6 рядов корнеоцитов.

Дерма имеет мезенхимное происхождение. В первый месяц внутриутробного развития она состоит из круглых и веретенообразных клеток, среди которых на 2-м месяце формируется сеть нежных аргирофильных волокон, а на 3-м образуются отдельные эластические и коллагеновые волокна. Коллагеновые волокна постепенно формируют пучки, переплетающиеся друг с другом и достигающие значительной толщины к 6–7-му месяцу.

Эластические волокна у 4-месячного плода формируют нежные сети, а к концу эмбрионального периода — мелкие, расположенные волнообразно пучки. К концу эмбрионального периода в дерме содержится значительное количество дифференцированных фибробластов, но вокруг сосудов и придатков кожи сохраняются недифференцированные клетки.

Жировая ткань также развивается из мезенхимы, ее наиболее ранним предшественником являются малодифференцированные фибробласты, располагающиеся по ходу мелких кровеносных сосудов. Они трансформируются в преадипоциты, по мере дифференцировки которых появляется активность ферментов синтеза липидов (маркерным ферментом является липопротеиновая липаза), перестраивается цитоскелет клеток, подавляется синтез коллагенов I и III типов и усиливается продукция коллагенов IV и VI типов (рис. 9).

Кроме того, в клетках обнаруживаются скопления гликогена, а позднее мелкие липидные капли, сливающиеся друг с другом и смещающие органоиды к периферии. Клетки увеличиваются в размерах, теряют отростки и приобретают сферическую форму — преобразуются в адипоциты. Дифференцировка подкожной жировой клетчатки завершается во второй половине беременности.

Меланоциты и клетки Меркеля (КМ) эпидермиса имеют эктодермальное происхождение. Причем происхождение вторых окончательно не определено, в то время как первые в ходе первых трех месяцев внутриутробного развития мигрируют из неврального гребня (НГ) и заселяют эпидермис.

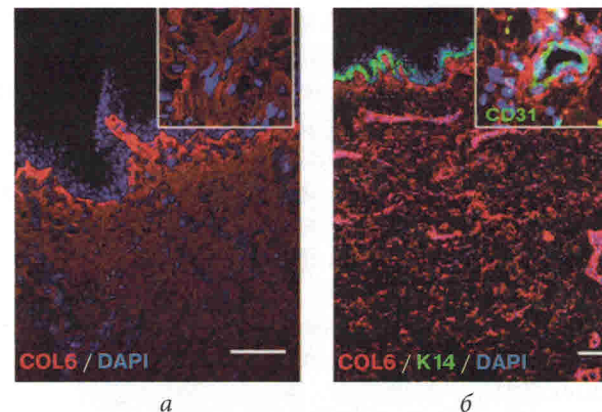


Рис. 9. Экспрессия коллагена VI типа в коже: *а* — локализация коллагена VI типа в замороженных срезах крайней плоти новорожденных; *б* — локализация коллагена VI типа (красного цвета) в парафиновых срезах кожи взрослого. Шкала — 100 мкм. Вставки имеют двукратный зум (Theocharidis G. et al., 2016)

В группу клеток мезодермального происхождения входят клетки Лангерганса (КЛ), лимфоциты, макрофаги и тучные клетки, мигрирующие в кожу из костного мозга.

Следует отметить, что мозг и периферическая нервная система, ретина, мозговое вещество надпочечников также имеют эктодермальное происхождение, в то время как обонятельный эпителий и обонятельные нервы, передняя доля гипофиза, эпителиальные структуры молочных желез происходят из наружного эпителия. К мезодермальным структурам относят клетки иммунной системы, эндотелий сосудов, кору надпочечников, эпителий гонад, строму. Эти эмбриональные ассоциации могут детерминировать потенциальную возможность клеток кожи, продуцировать молекулы, сходные с таковыми продуктами их дальних и близких родственников.

## 2.2. Эпидермис

Эпидермис представлен многослойным плоским ороговевающим эпителием. Для него, как и для всех видов эпителия, характерны минимальное количество межклеточного вещества и высокая способность к регенерации, физиологической и репаративной, что обеспечивается делением камбия



(стволовых и полустоловых клеток). Другой чертой эпителиев, и эпидермиса в частности, является наличие хорошо развитых межклеточных соединений, обуславливающих связь клеток друг с другом.

Межклеточные соединения в эпидермисе представлены интердигитациями, щелевидными соединениями, десмосомами, плотными и промежуточными соединениями.

*Интердигитации* образованы выпячиваниями цитоплазмы одних кератиноцитов, вдающимися в цитоплазму других. За счет интердигитаций увеличивается площадь поверхности, через которую осуществляются межклеточные коммуникативные процессы.

*Щелевидные соединения (nexus)* образованы комплексом трансмембранных трубчатых структур (коннексонов), пронизывающих плазмолеммы соседних кератиноцитов на стыкующихся участках. Коннексон образован шестью субъединицами белка коннексина, окружающими канал диаметром 1,5–2,0 нм. Каждое щелевидное соединение представлено несколькими сотнями коннексонов, что обеспечивает ионное и метаболическое сопряжение клеток путем свободного обмена низкомолекулярными (с массой менее 2 кДа) соединениями — неорганическими ионами, сахарами, витаминами, аминокислотами, нуклеотидами, аденозинтрифосфатом (АТФ) и др. Коннексоны экспрессируют коннексины — политопные интегральные мембранные белки, четыре раза прошивающие мембрану, имеющие две внеклеточные петли (EL-1 и EL-2), цитоплазматическую петлю (CL) с N-концом (AT) и C-концом (CT), вдающимися в цитоплазму (рис. 10, 11).

*Десмосомы (macula adherent — пятно сцепления)* были описаны в 1870 г. Биццоцерио в виде узелков на клеточных мостиках шиповатых кератиноцитов. Они представлены дисковидными уплотнениями цитоплазматического листка плазмолемм соседних клеток — *пластинок прикрепления*, разделенных межклеточным пространством.

Пластинки прикрепления имеют размеры 250–700 нм, служат участками фиксации тонофиламентов и содержат белки — десмоплакины, катенин/плактоглобин, плакофелины (Ркр), десмоглеины и десмокальмин.

Плакофелины являются основным компонентом десмосом многослойного плоского эпителия и преимущественно

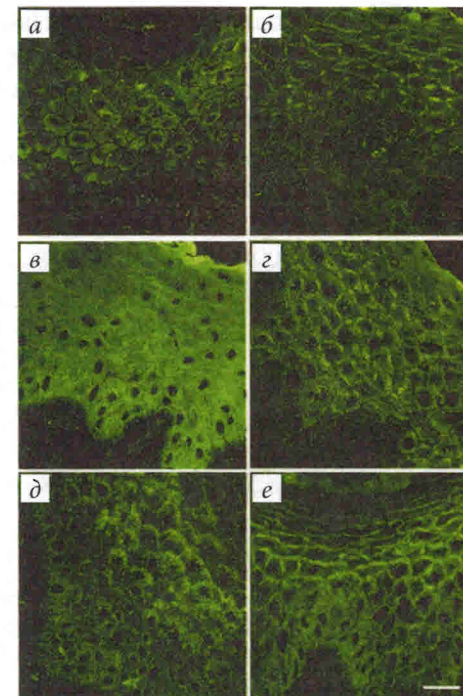


Рис. 10. Паттерн экспрессии белков коннексина в нормальном эпидермисе человека. Иммунофлуоресцентное окрашивание с использованием антител к коннексину: а —  $\times 26$ ; б —  $\times 30$ ; в —  $\times 32$ ; г —  $\times 40$ ; д —  $\times 43$ ; е —  $\times 45$ . Шкала — 20 мкм

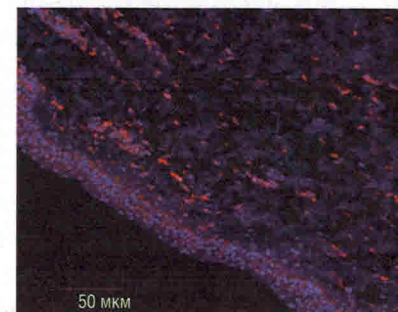


Рис. 11. Экспрессия коннексина-43 в коже. Иммунофлуоресцентная конфокальная микроскопия; для окраски ядер использовали Ноехст (синяя флуоресценция). Визуализацию белка проводили с помощью вторичных антител, конъюгированных с Alexa Fluor 647 (красная флуоресценция);  $\times 400$



## Очерк 4

### Гиалуроновая кислота, коллаген, эластин в межклеточном матриксе дермы

Одна из особенностей многоклеточных организмов — наличие вне- или межклеточного матрикса, который окружает большинство клеток. В состав межклеточного матрикса входят различные биологические макромолекулярные соединения (белки коллаген и эластин, ГК как основной представитель гликозаминогликанов, протеогликианы, неколлагеновые структурные белки, гормоны, факторы роста), которые образуют сложный комплекс в виде упорядоченной сетевой структуры, функционирующей как единое целое. Коллаген, эластин, ГК являются основными компонентами межклеточного вещества дермы, которые в основном и определяют структуру и внешний вид кожных покровов.

Время жизни отдельной биомолекулы в организме отследить невозможно, поэтому для характеристики жизнеспособности используют параметр, называемый периодом полураспада ( $t_{1/2}$ ) — это время, за которое происходит ферментативное расщепление 50 % всего пула макромолекул. При испытываемом клеткой физико-химическом стрессе или вследствие старения равновесие между синтезом и распадом нарушается.

Очень важно отметить, что координация процессов синтеза и распада различных биополимерных соединений имеет свои особенности. Она осуществляется регуляторными системами, которые согласовывают скорости ферментативного синтеза и распада, необходимые для физиологического функционирования и обновления, ремоделирования тканевых структур дермы. Существует множество факторов, которые смещают равновесие между этими процессами. Межклеточный матрикс представляет собой внешнюю экологическую нишу, в которую клетки «делегируют» ферменты, а также их ингибиторы и активаторы, способные замедлять либо

ускорять сборку или распад межклеточных структур. Характерная особенность дермы и других соединительных тканей состоит в том, что биосинтез основных макромолекул для межклеточного матрикса происходит внутри клеток обособленно. Только после выхода макромолекул в межклеточное пространство между ними возникают взаимодействия, в результате которых образуются высокоорганизованные матриксные структуры. Это переносит координацию, сопряжение, интеграцию синтезов, функционирования и достижения гомеостаза ткани уровня взаимодействия «клетка – матрикс» и «матрикс – клетка». Очевидно, что динамический баланс между синтезом и распадом основных биологических компонентов дермы — коллагена, эластина, гиалуронана — является ключевым звеном поддержания здоровой ткани в целом, а нарушения динамического баланса между синтезом и распадом этих биополимерных соединений приводят к иницированию патологии. Именно поэтому стратегия действий, направленная на сохранение кожного гомеостаза, должна быть основана на глубоком знании биохимических процессов с участием основных компонентов межклеточного вещества дермы.

#### 4.1. Структура, биосинтез и биodeградация, клеточные рецепторы гиалуронана

Одним из главных компонентов межклеточного матрикса и частью ландшафта клеточной поверхности клеток млекопитающих является гиалуронан (ГК). ГК по структуре является одним из древнейших и простейших полисахаридов, состоящих из последовательности дисахаридных блоков, соединенных  $\alpha$ -1-4-связями. Каждый дисахаридный блок имеет молекулярную массу примерно 400 Да и включает N-ацетил-D-глюкозамин и D-глюкуроновую кислоту, соединенные  $\beta$ -1-3-связью (рис. 62).

У млекопитающих биосинтез ГК осуществляют ферменты гиалуронансинтетазы (разновидность гликозилтрансфераз) HAS, представленные 3 изоформами — HAS1, HAS2 и HAS3. При этом только одна из них — HAS2 — является жизненно необходимой начиная с эмбриональных стадий развития организма (по крайней мере, у мышей). Молекулы HAS



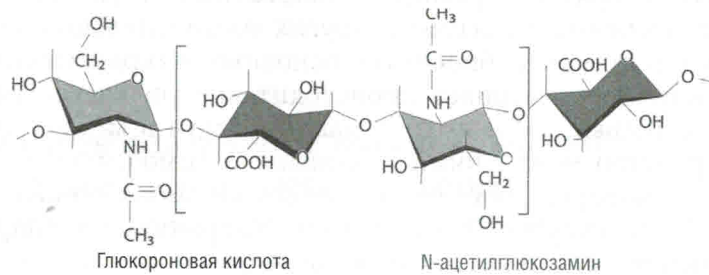


Рис. 62. Структура дисахаридного блока — базового звена полимерной цепи молекулы гиалуроновой кислоты

представляет собой трансмембранные белки, у которых N-конец выходит наружу из клеточной мембраны, а C-концевой домен — в цитоплазму.

После активирования C-домен начинает формировать цепь ГК, поочередно соединяя циркулирующие в цитоплазме субстратные молекулы D-глюкуроновой кислоты (GlcUA) и N-ацетил-D-глюкозамина (GlcNAc) путем замыкания  $\beta$ -1-3-связей. Одновременно происходит выталкивание растущей цепи сквозь клеточную мембрану к ее внешней стороне. В здоровых тканях организма ГК находится в основном в высокомолекулярной форме (условная граница: молекулярная масса более 1000 кДа) на поверхности клеток или в межклеточном матриксе. Получены также доказательства присутствия внутриклеточной ГК в цитоплазме и ядре, но ее роль там остается невыясненной.

В норме в клеточной мембране наиболее представительна HAS2, а наименее — HAS1. У многих типов клеток млекопитающих базовый уровень HAS3 в норме низок и нередко вообще не обнаруживается в эксперименте. В зависимости от влияния окружающей среды на состояние клетки (норма или стресс/воспаление) баланс фракций ГК, произведенных различными изоформами HAS, сдвигается в пользу одной из них. Кроме этого, различные типы клеток могут «предпочитать» ту или иную HAS.

Так, в кератиноцитах основным продуцентом ГК в норме служит HAS1, но при увеличении уровней АТФ или УТФ в среде включается HAS2, а при добавке гамма-интерферона преобладает HAS3. В дерме, где фибробластами синтезируется

большая часть ГК кожи, основным ферментом выступает HAS2, а HAS3 доминирует в клетках мозга. С возрастом активность всех трех HAS падает.

Свежесинтезированная макромолекула ГК может оставаться ассоциированной с клеточной мембраной, отделиться от нее и стать составной частью окружающего клетку межклеточного матрикса или отправиться в свободное плавание по лимфатическим путям.

Существует также 4-я опция: молекула ГК (часто вместе с молекулой рецептора) может быть захвачена в специальную впадину клеточной мембраны и переместиться внутрь клетки процессом, называемым эндоцитозом. Есть также указания на эндоцитоз ГК вместе с молекулами HAS3. HAS2 является единственной гиалуронансинтетазой, продукт которой высвобождается и далее не связан ни с ней, ни с поверхностным рецептором. В отличие от ГК, произведенной HAS2 или HAS3, продукты HAS1 всегда связаны с одним из поверхностных ГК-рецепторов.

Все три изоформы HAS способны формировать как гомодимеры типа HAS1/HAS1 или HAS2/HAS2, так и гетеродимеры типа HAS1/HAS2 или HAS3/HAS2. Все изоформы HAS производят различные по длине, но идентичные по химической структуре полисахаридные цепи. Механизмы, регулирующие размер (массу) полисахаридов ГК в процессе их синтеза, не установлены.

Согласно полученным *in vitro* данным, HAS3 производит ГК с молекулярной массой 100–300 кДа, а более крупные макромолекулы продуцируются с помощью HAS1 и HAS2. При этом предел длины синтезируемой *in vivo* ГК различен для разных организмов: у человека — около 2 МДа, а у голлого землекопа (*H. glaber*, naked mole-rat — разновидность подземной крысы) — 12 МДа.

Активность генов HAS1/2/3 регулируют многие стресс-факторы, среди которых основную роль играют факторы роста (GF) TGF- $\beta$ 1/2, FGF, EGF, PDGF-BB, а также цитокины IL-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и др. Например, TGF- $\beta$ 1 стимулирует активность генов HAS1 и HAS2 у фибробластов, HAS1 у синовицитов, но подавляет транскрипцию HAS2 и HAS3 в кератиноцитах.



Боле того, TGF- $\beta$ 1 может оказывать противоположный эффект на фибробласты дермы и фибробласты, локализованные в буккальном эпителии и эпителии десен. Эпигенетический контроль над активностью HAS осуществляется через изменение уровня метилирования их промоторов и через связывание регуляторных микроРНК с их мРНК. Синтез пре-мРНК HAS2 контролируется особой AS1-РНК, а ферментативная активность всех HAS регулируется их посттрансляционными модификациями.

#### 4.1.1. Расщепление гиалуронана гиалуронидазами

У человека гены *HYAL1*, *HYAL2* и *PH-20* кодируют функционально активные ферменты HYAL (гиалуронидазы). Они относятся к семейству эндогликозидаз и расщепляют цепь ГК в местах  $\beta$ -D-(GlcNAc)-GalNAc-(1-4)- $\beta$ -D-GlcA связей (рис. 63).

HYAL1 и HYAL2 активны у большинства соматических клеток, а PH-20 (SPAM-1) встречается только в молочной железе, на поверхности клеток спермы и в простате. В тех частях организма, в которых присутствие высокомолекулярной ГК особенно критично для выживаемости, гиалуронидазы не обнаруживают, например в мозге или в синовиальной жидкости в суставах. *In vitro* HYAL1 способна расщеплять макромолекулы ГК любого размера. Она встречается внутри клеток, на их поверхности и в свободной форме вне клеток (например, в кровотоке и моче).

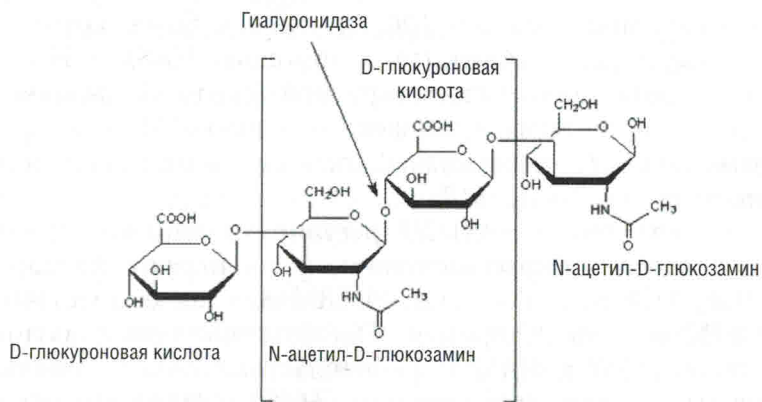


Рис. 63. Расщепление гиалуроновой кислоты посредством гиалуронидаз

Внутри клетки HYAL1 обнаруживают в лизосомах, где она действует совместно с  $\beta$ -экзогликозидазой,  $\beta$ -глюкуронидазой и  $\beta$ -ацетилглюкозаминидазой, расщепляя уже фрагментированную ГК до тетрамеров (4 дисахаридных блоков), что соответствует молекулярной массе примерно 1600 Да. HYAL2 расщепляет высокомолекулярную ГК на поверхности клеток на фрагменты различной длины, с минимальной массой приблизительно в 20 кДа (50 дисахаридных блоков). HYAL2 обнаруживают и в лизосомах, однако ее функция там остается непонятной, учитывая не подходящий для нее уровень pH в них.

В эпителиальных клетках легких активность гена *HYAL2* регулируют различные провоспалительные факторы, включая окислительные радикалы ROS. Однако в хондроцитах в возрасте концентрации цитокинов (таких как IL-1 или ФНО) повышает концентрацию HYAL1, но не влияет на активность HYAL2, что предполагает постоянную активность последней.

Активность HYAL2 проявляется лишь при относительно кислых pH 4,8 в липидных рафтах цитомембраны и значительно уменьшается уже при нормальном физиологическом pH 6,8. Молекула HYAL2 (аналогично PH-20) прикреплена к внешней поверхности цитоплазматической мембраны с помощью «якорной молекулы» глюкозил-фосфатидил-инозитола (GPI).

Необходимым условием для ферментативной работы HYAL2 на мембране (аналогично с функционированием HAS1) является ее контакт с рецептором CD44. Активность гена *HYAL1* контролируют факторы транскрипции EGR-1, AP-2 и NF- $\kappa$ B (ядерный фактор «каппа-би» — от англ. nuclear factor kappa B), а гена *HYAL2* — факторы NF- $\kappa$ B, TCF/LEF1, SP1 и Smad3. Все функции HYAL2 пока не изучены, но уже ясно, что они не ограничиваются лишь расщеплением ГК. Так, в ядре HYAL2 участвует в сплайсинге пре-мРНК CD44, а на поверхности цитоплазматической мембраны связывается с некоторыми регуляторными белками (например, с TGF- $\beta$ 1). С возрастом спад активности HYAL, в отличие от HAS, не наблюдается.

Примерно 30 % всего количества ГК у человека деградирует в течение суток и используется для ресинтеза новой ГК, что предполагает постоянную активность гиалуронидаз.



До 2013 г. считалось, что основными являются HYAL1 и HYAL2. Однако отсутствие этих ферментов в некоторых тканях, например в мозге, а также низкая активность HYAL2 заставляли продолжать поиски других ферментов.

Обнаруженный совсем недавно трансмембранный белок TMEM2 функционирует как гиалуронидаза, расщепляющая ГК на внешней поверхности клеточной мембраны до небольших фрагментов, вплоть до 5 кДа. Он специфичен именно к ГК, поскольку не способен расщеплять хондроитин-сульфат или дерматан-сульфат. Фактор TGF- $\beta$ 1 — единственный индуктор экспрессии гена TMEM2.

Сейчас роль главного регулятора деполимеризации ГК на поверхности клетки и в лизосомах отдают белку KIAA1199 (называемому также HYVID или SEMIP). В нормальных клетках активность KIAA1199 минимальна и не препятствует активности гиалуронансинтетаз HAS1/2.

При воспалениях, раке и ряде патологий цитокины (например, IL-1 $\beta$ ) провоцируют значительный рост концентрации продуцируемого фибробластами KIAA1199, который в комплексе с эндо- $\beta$ -N-ацетилглюкозаминидазой способствует деградации полимерных цепей ГК до фрагментов в несколько сотен килодальтонов. Этот процесс протекает в специфических областях (так называемых липидных рафтах) внешней части клеточной мембраны, в которых pH несколько понижен.

Образующиеся фрагменты еще более усиливают воспалительный процесс. KIAA1199 является секреторным белком, но функционирует и внутри клетки. Внутриклеточная окончательная деградация на дисахариды предварительно расщепленной до среднего размера ГК происходит именно с помощью KIAA1199, а не HYAL1 или HYAL2, которые являются эндоферментами. Функционирование KIAA1199 не зависит от активности TMEM2. Следует отметить, что несколько видов бактерий-симбионтов в кишечнике млекопитающих обладают собственными ферментами, способными расщеплять глюкозаминогликаны, включая ГК.

#### 4.1.1.2. Рецепторы гиалуронана

Многие типы клеток позвоночных животных, включая стволовые клетки, окружены желеобразной «шубой» из высокомолекулярной ГК толщиной 5–10 микрон, продуцируемой

с разной эффективностью синтетазы HAS2 и HAS3. Эта ГК контактирует с разнообразными белками окологлобального матрикса — тенаскином (tenascin), TSG-6, пентраксином (pentraxin), тромбоспондином (thrombospondin) и другими. На поверхности клетки ГК связывается со специфическими рецепторами: CD44, RHAMM, HARE, HMMR и LYVE-1. Данные о взаимодействии ГК с поверхностными рецепторами TLR2/4 остаются противоречивыми.

Важнейшим рецептором ГК является трансмембранный белок CD44, внутриклеточный домен которого связан с белками цитоскелета. В норме ген CD44 не активен у большинства дифференцированных клеток, но он активен в некоторых типах клеток печени, в альвеолярных макрофагах и в стволовых клетках. Местом локализации CD44 служат липидные рафты (островки) (lipid rafts). Активность гена CD44 держится под контролем различными факторами транскрипции (рис. 64).

Рецептор Cd44 не является жизненно важным у мышей, и, более того, его отсутствие у взрослых особей наделяло их устойчивостью к инфекциям и тормозило развитие искусственно стимулируемого атеросклероза или инсулин-резистентности. Ген CD44 человека содержит 19 экзонов, 10 из которых обладают непостоянной (вариационной) структурой.

Такое строение позволяет формировать множество изоформ CD44-транскриптов, называемых вариантами v1-10 (CD44v1–CD44v10). В стволовых клетках и в большинстве типов дифференцированных клеток здоровых тканей и органов встречается только одна изоформа, получившая название стандартной — CD44s — и состоящая из набора экзонов 1–5 и 15–19.



Рис. 64. Транскрипционные факторы, регулирующие активность гена CD44 (Chen J. et al., 2018)