

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|-----------|
| Предисловие | 8 |
| Список сокращений и условных обозначений | 11 |
| Часть I. Гиалуриновая система. Биохимия, метаболизм и рецепторы гиалуриновой кислоты | 13 |
| Глава 1. Химическая структура гиалуриновой кислоты | 15 |
| Глава 2. Биосинтез гиалуриновой кислоты | 19 |
| 2.1. Структура, свойства и функции гиалуронансинтетаз | 19 |
| Глава 3. Катаболизм гиалуриновой кислоты | 28 |
| 3.1. Структура, свойства и функции гиалуронидаз | 28 |
| Глава 4. Рецепторы гиалуриновой кислоты | 33 |
| 4.1. Основные рецепторы гиалуронана. Структура и свойства | 33 |
| 4.2. Взаимодействия между рецепторами гиалуронана и другими рецепторными белками клеточной мембраны | 42 |
| Часть II. Клеточный цикл: обновление знаний | 57 |
| Глава 5. Механизмы инициации, продолжения и завершения отдельного цикла деления нормальной клетки | 59 |
| 5.1. Введение. Определения ключевых терминов и этапов цикла | 59 |
| 5.2. Основные внутриклеточные белки-регуляторы цикла | 62 |
| 5.3. Базовое состояние нормальной дифференцированной соматической или стволовой клетки — фаза «покоя» G_0 | 93 |
| 5.4. Инициирование клеточного цикла. Переход из фазы покоя в фазу G_1 | 95 |
| 5.4.1. Формирование киназных комплексов p27/21-CycD-CDK4 | 95 |
| 5.4.2. Механизмы деактивации RB и раскрепощения фактора E2F1 | 97 |
| 5.4.3. Дополнительные пути инициирования клеточного цикла | 106 |
| 5.4.4. R-переход к независимости от митогена | 127 |
| 5.5. Переход из фазы G_1 в фазу S, репликация ядерного генома и завершение единичного цикла | 132 |
| 5.6. Нарушения в механизмах отдельного клеточного цикла как причина его невозобновления | 140 |

| | |
|---|------------|
| 5.6.1. Генетическая нестабильность. Ее причины и последствия | 140 |
| 5.6.2. Механизмы ингибирования цикла | 141 |
| 5.7. Влияние окислительно-восстановительных процессов на цикл | 142 |
| Глава 6. Осцилляторные процессы при продолжающихся циклах деления нормальных клеток | 146 |
| 6.1. Осцилляция активности основных белков-регуляторов | 146 |
| 6.2. Роль мембранных потенциалов | 151 |
| 6.3. Роль циркадных ритмов | 152 |
| Глава 7. Эпигенетическая регуляция клеточного цикла | 155 |
| Глава 8. Связь клеточного цикла с метаболизмом | 160 |
| 8.1. Краткое введение в основы метаболизма клетки. | 160 |
| 8.2. Метаболизм контролирует прогресс клеточного цикла . . . | 168 |
| 8.3. Влияние белков-регуляторов цикла на метаболизм | 172 |
| 8.4. Выводы и некоторые замечания | 181 |
| Часть III. Роль гиалуроновой системы в клеточном цикле, метаболизме и физиологии. | 227 |
| Глава 9. Участие гиалуроновой системы в клеточном цикле | 230 |
| 9.1. Роль высокомолекулярной гиалуроновой кислоты и ее рецепторов в блокировании начала клеточного цикла | 230 |
| 9.2. Роль гиалуроновой кислоты и ее рецепторов в иницировании клеточного цикла. | 234 |
| 9.2.1. Связываясь с различными рецепторами, низкомолекулярная гиалуроновая кислота индуцирует начало клеточного цикла | 234 |
| 9.2.2. Связываясь с низкомолекулярной гиалуроновой кислотой, рецептор RHAMM функционирует как регуляторный белок клеточного цикла | 241 |
| 9.3. Гиалуроновая система в клеточном цикле опухолевых клеток | 242 |
| Глава 10. Участие гиалуроновой системы в общеклеточном метаболизме | 250 |
| 10.1. Гиалуроновая система в метаболизме нормальных клеток | 250 |
| 10.2. Гиалуроновая система в метаболизме опухолевых клеток | 255 |

| | |
|---|------------|
| Глава 11. Гиалуриновая система в физиологии. | 260 |
| 11.1. Роль рецепторов гиалуронана в воспалении и онкологии. | 260 |
| 11.2. Роль низкомолекулярного гиалуронана | 277 |
| 11.2.1. Роль гиалуронидаз HYAL | 277 |
| 11.2.2. Роль фрагментов гиалуронана (низкомолекулярной гиалуриновой кислоты). | 280 |
| 11.3. Роль высокомолекулярного гиалуронана | 286 |
| Часть IV. Функциональная взаимосвязь старения, клеточного цикла и гиалуриновой системы. Инфламэйджинг — современная концепция хронического воспалительного старения. | |
| Глава 12. Сенесцентные клетки — неотъемлемый фенотип старения организма | 315 |
| 12.1. Понятие клеточной сенесцентности | 317 |
| 12.1.1. Причины и механизмы сенесцентности (причины остановки цикла, ведущие к сенесцентности <i>in vivo</i>) | 319 |
| 12.1.2. Сенесцентность стволовых клеток | 321 |
| 12.1.3. Сенесцентность внеклеточного матрикса | 325 |
| 12.2. Остановленный клеточный цикл и сенесцентность | 325 |
| 12.2.1. Состояние клеточного покоя (фаза G_0) | 326 |
| 12.2.2. Последствия искусственно вызванной остановки клеточного цикла <i>in vitro</i> : пропуск фазы митоза, полиплоидия и сенесцентность | 330 |
| 12.2.3. Различная роль белков p16 и p21 в сенесцентности. | 331 |
| 12.3. Специфические характеристики сенесцентности | 334 |
| 12.3.1. Транскриптом и протеом сенесцентной клетки | 334 |
| 12.3.2. Эпигенетика стареющей и сенесцентной клетки | 340 |
| 12.3.3. Метаболизм сенесцентной клетки. | 342 |
| 12.3.4. Секреторный фенотип SASP (включая везикулы-экзосомы). | 348 |
| Глава 13. Инфламэйджинг — смена парадигмы старения | 357 |
| 13.1. Обобщение сформировавшихся представлений о причинах хронических воспалений | 358 |
| 13.2. Инфламэйджинг как следствие сенесцентности | 362 |
| 13.2.1. Сенесцентность и инфламэйджинг человеческой кожи | 368 |
| 13.3. Роль гиалуриновой системы в инфламэйджинге | 375 |

| | |
|---|-----|
| 13.4. Роль ретротранспозонов в инфламэйджинге | 378 |
| 13.5. Инфламэйджинг связан с активацией инфламмосы NLRP3 и запрограммированным некрозом. | 382 |
| 13.6. Роль запрограммированного некроза | 389 |
| 13.7. Инфламэйджинг и онкология. | 391 |
| 13.8. Подходы к профилактике и лечению инфламэйджинга | 392 |

ПРЕДИСЛОВИЕ

Предпосылкой для написания данной книги послужило ощущение необходимости донести до заинтересованного читателя информацию о современном состоянии исследований клеточного цикла — фундаментального биологического процесса, поддерживающего все живое, — во взаимосвязи с принципиально новыми данными о гиалуроновой кислоте, также фундаментальной составляющей органов и тканей организма человека и животных.

Гиалуроновая кислота (гиалуронан) — полисахарид, открытый 90 лет назад, — и сегодня не перестает удивлять исследователей своими уникальными свойствами в различных областях медицины, биохимии и биофизики, молекулярной биологии и биологии старения. Например, медицинские аспекты включают изучение роли гиалуронана в оплодотворении, эмбриогенезе, выработке иммунного ответа, ранозаживлении, в инфекционных и онкологических заболеваниях, в процессах старения и решении проблем антивозрастной медицины. Гиалуронан вовлечен во многие биологические процессы, присутствуя практически во всех тканях организма, где играет важную роль в клеточной активности, участвуя в реорганизации структур хроматина и регуляции работы генов. В клетке этот полисахарид локализуется и в ядре, и в цитоплазме, а также в межклеточном матриксе, взаимодействуя с рецепторами на поверхности клетки и с белками матрикса. Гиалуронан участвует в адаптации клеток к физическим и химическим стрессовым воздействиям. При этом он может проявлять аддитивные, синергические и антагонистические свойства с родственными сульфатированными полисахаридами и даже между собой — олигосахаридами с разной молекулярной массой.

Наш научный интерес к гиалуроновой кислоте возник почти 20 лет назад, когда мы занимались вопросами медицинского применения биополимерных гидрогелей. За это время было получено более 25 патентов РФ на способ получения и состав биоактивных композиций на основе гиалуроновой кислоты. Результаты экспериментальных исследований по большей части вошли в монографии: *Хабаров В.Н., Бойков П.Я. Биохимия гиалуроновой кислоты. М.: Тисо Принт, 2016; Хабаров В.Н., Пальцев М.А., Родичкина В.Р., Кветной И.М. Молекулярная косметология (сигнальные механизмы старения кожи, таргетная профилактика и терапия). СПб.: ЭКО-ВЕКТОР, 2021; Хабаров В.Н. Гиалуроновая кислота в инъекционной косметологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017; Бойков П.Я., Хабаров В.Н. Гиалуронан в онкологии. Осцилляторная гипо-*

теза онкогенеза. М.: Адвансед Солюшнз, 2018; Хабаров В.Н., Иванов П.Л. Биомедицинское применение гиалуроновой кислоты и ее химически модифицированных производных. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020; Хабаров В.Н, Бойков П.Я., Колосов В.А., Иванов П.Л. Гиалуронан в артрологии. М.: Адвансед Солюшнз, 2014; Хабаров В.Н. Коллаген, эластин, гиалуроновая кислота в молекулярной косметологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2024.

Гиалуроновая кислота вместе с ферментами ее синтеза (гиалуронансинтетазой) и расщепления (гиалуронидазой) в совокупности с ее рецепторами формирует важнейшую регуляторную систему, которая, как стало особенно ясно за последние годы, участвует в регуляции клеточного цикла. Поэтому первые главы в первой части книги мы начинаем с базовой информации о биохимии гиалуроновой кислоты.

Появление новых подходов к изучению процессов в отдельной клетке привело к неожиданным результатам и заставляет пересмотреть устоявшиеся за несколько десятилетий представления (часть II, глава 5). После десятков лет исследований механизмов инициации клеточного цикла их понимание обогатилось многими данными, но общая картина, скорее, усложнилась, поскольку обнаружилось большое количество взаимосвязей между отдельными каскадами реакций, функционирующих одновременно. В эту картину теперь включены циркадные ритмы и эпигенетические факторы (часть II, глава 6). Соответственно, вычленив причины и следствия стало значительно сложнее, и, хотя на помощь все активнее приходит математическое моделирование, реальная жизнь клетки слишком сложна, чтобы удовлетворительно вписаться в предлагаемые на сегодняшний день модели.

Третья часть книги посвящена роли гиалуроновой кислоты, а в более широком аспекте — гиалуроновой сигнальной системе в метаболизме и клеточном цикле нормальных и раковых клеток. Это относительно новая область исследований: судя по списку цитируемой литературы, приведенной в конце третьей части данной монографии, она развивается не более 10 лет на фоне более чем столетнего изучения клеточного цикла.

Возникшее за последнее время переплетение интересов ученых различных специальностей, занимающихся серьезной медицинской проблемой — злокачественными опухолями, с одной стороны, и вопросами, связанными с биологией старения, — с другой, тесно связано с фундаментальными основами клеточного метаболизма и деления. Поэтому в четвертой части рассмотрена современная концепция «воспалительного старения» (инфламэйджинга) через призму взаимосвязи с гиалуроновой кислотой и клеточным циклом.

Авторы отдают себе отчет в том, что попытка системно связать клеточный цикл, биохимию гиалуронана с современной концепцией воспалительного старения не во всех аспектах покажется достаточно полно аргументированной, тем не менее приведенные материалы исследований помогут читателю сформировать представление об этих основополагающих процессах молекулярной клеточной биологии. Понимание изложенного в данной книге материала требует определенной подготовки в биохимии, медицинской и молекулярной биологии. Поэтому она предназначена в основном для профессиональных молекулярных биологов и студентов старших курсов профильных вузов. При этом авторы приложили усилия, чтобы разнообразить текст возможно большим количеством иллюстраций, что должно помочь как в усвоении, так и в понимании материала.

*Хабаров В.Н.,
Москва, июль 2024 г.*

Глава 9

УЧАСТИЕ ГИАЛУРОНОВОЙ СИСТЕМЫ В КЛЕТОЧНОМ ЦИКЛЕ

Все компоненты гиалуроновой системы — сам полисахарид, гиалуронансинтетазы, гиалуронидазы и ГК-рецепторы — являются важными участниками клеточного цикла нормальных клеток (Zhu, Thompson, 2019; Leng et al., 2019; Rais et al., 2023; Хабаров, 2024). Роль полисахаридной молекулы в цикле деления клеток опосредована ее взаимодействием в основном с двумя рецепторами — CD44 и RHAMM (Хабаров и др., 2020).

9.1. РОЛЬ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ РЕЦЕПТОРОВ В БЛОКИРОВАНИИ НАЧАЛА КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

В цитоплазме фибробластов ГК наблюдалась в виде диффузной сетчатой структуры в контакте с RHAMM и в составе везикул, а также в ядре во время поздней профазы/ранней прометафазы митоза (Evanko, Wight, 2023). Окружающая дифференцированные и стволовые клетки ВМГК с массой более 500 кДа, продуцируемая HAS1 и/или HAS2, поддерживает их покой в фазе G₀, блокируя доступ к рецептору CD44 и регулируя поверхностный электропотенциал (**рис. 9.1**) (Wong et al., 2017; Ohtsuki et al., 2018; Knudson et al., 2019).

В процессе эмбриогенеза ВМГК активирует PI3K-АКТ и RAS-ERK каскады в первичных трофобластах, что приводит к их активной пролиферации (Zhu R. et al., 2013). Однако на пролиферацию фибробластов и других типов клеток взрослого организма ВМГК оказывает противоположный, ингибирующий эффект (Kothapalli et al., 2008). Механизмы подавления роста посредством ВМГК включают CD44-зависимую передачу сигналов пути Hippo, а также участие в раннем контактном ингибировании через актинсвязывающие белки эзрин-радиксин-моезин

(Ooki et al., 2019; Fu M. et al., 2022). Фактор транскрипции p53 на своем минимальном базовом уровне предотвращает экспрессию гена *CD44*, связываясь с его промотором (Хабаров и др., 2020a). Ингибирование гена *CD44* приводит *in vitro* к снижению уровня β -катенина, переводу в активное состояние белка p21 и остановке уже начавшегося цикла в фазе G_0 (Chang G. et al., 2013).

В 2009 г. была высказана гипотеза, что спокойная жизнь в фазе покоя G_0 не дается клетке даром, поскольку внешние стимулы (такие как АФК) для ее деления существуют всегда. Эти внешние стресс-факторы требуют непрерывного подавления, и ВМГК играет при этом самую непосредственную роль (Pure, Assoian, 2009). ВМГК препятствует клеточному апоптозу посредством ингибирования каскада ROS-ASK1-p38/JNK и поддерживает непрерывный синтез противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-13 (рис. 9.2) (Mowbray et al., 2018; Shi et al., 2019).

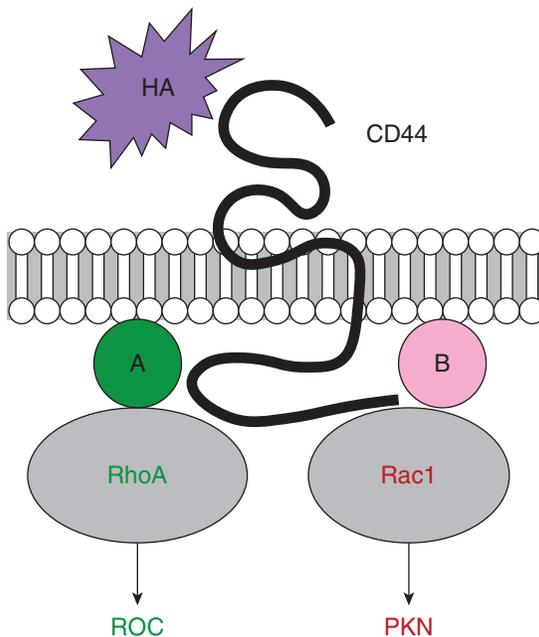


Рис. 9.1. Поддержание клеткой фазы покоя через постоянный контакт связанного с высокомолекулярной гиалуроновой кислотой рецептора CD44 (его цитоплазматического домена) с блокирующими активность белков-активаторов цикла киназами ROC и PKN

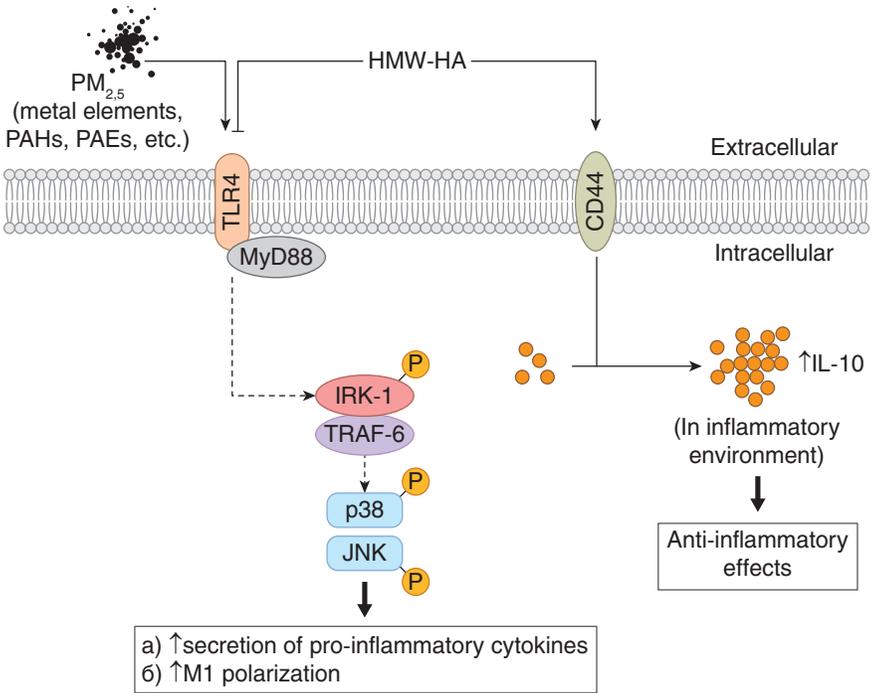


Рис. 9.2. Высокомолекулярный гиалуронат (HMW-HA) подавляет поляризацию M1-макрофагов и выработку провоспалительных цитокинов, при этом повышая уровень антиинфламаторных цитокинов (интерлейкина-10 и др.)

В фазе G_0 основная часть ВМГК связана с белками $\beta 1$ -интегринами на поверхности клеточной мембраны и лишь меньшая часть — с рецепторами CD44 (Evanko et al., 2015; Хабаров, Бойков, 2016). Объясняется это тем, что в этом состоянии нормальная дифференцированная клетка поддерживает на поверхности минимально необходимое количество рецепторов CD44. Их распределение по всей поверхности клетки неоднородно, что предполагает существование нескольких близкорасположенных молекул-рецепторов, с которыми в силу своей значительной величины может одновременно связываться единичная макромолекула ВМГК. Это приводит к объединению двух цитоплазматических доменов CD44 в единый функциональный кластер (мультикомплекс) (Yang S. et al., 2012). С таким комплексом затем связывается белок-медиатор мерлин (merlin, NF2), который ингибирует через рецепторы факторов роста одну из ключевых мембраносвязанных киназ цикла — RAS. Протекание

этого процесса блокирует активацию каскадов реакций инициации цикла деления клетки через киназы Ras и ERK1/2 (**рис. 9.3**) (Wong T. et al., 2017). При этом мерлин должен пребывать в нефосфорилированном состоянии, за что отвечает протеинфосфатаза PP (Pure, Assosian, 2009).

Следует также упомянуть, что ВМГК может активировать каскад RAC1-РКН, способствующий клеточной дифференцировке, но, что очень важно, не пролиферации (Bourguignon, 2014; Хабаров и др., 2020а). Прямое взаимодействие между двумя ключевыми макромолекулами ВКМ — гиалуронатом и версиканом — осуществляет белок-медиатор HAPLN1 (Wight, 2017). Этот трехкомпонентный комплекс контролирует цикл, пролиферацию и миграцию Т-лимфоцитов и фибробластов человека, а также превращение фибробластов в миофибробласты. Он локализуется в перичеллюлярном матриксе (Evanko et al., 2020; Zhou D. et al., 2023).

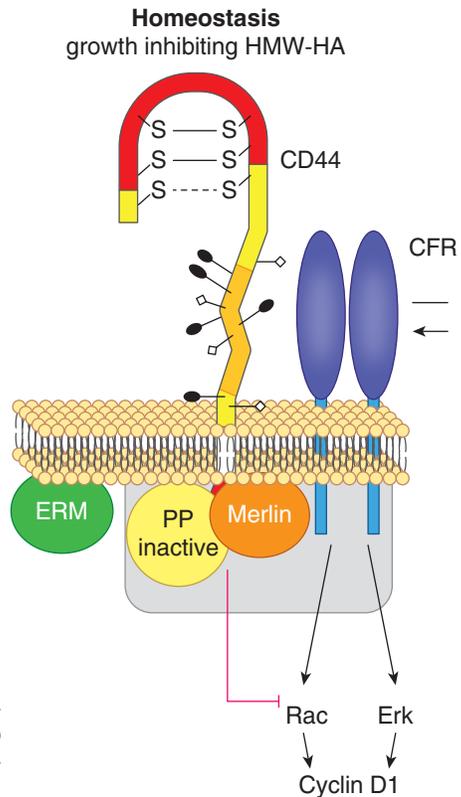


Рис. 9.3. Связывание CD44 с высокомолекулярным гиалуронатом (HMW-HA) ингибирует клеточный цикл через белок мерлин (merlin)

9.2. РОЛЬ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ РЕЦЕПТОРОВ В ИНИЦИИРОВАНИИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

9.2.1. Связываясь с различными рецепторами, низкомолекулярная гиалуроновая кислота индуцирует начало клеточного цикла

В инициации цикла у покоящихся клеток главную роль играет НМГК. Ее точного определения не существует, и в разных публикациях для нее приводятся различные величины молекулярной массы (обычно 10–250 кДа и олигомеры о-ГК < 10 кДа) (Matou-Nasri et al., 2009; Tian W. et al., 2023; Jia X. et al., 2023). Через различные рецепторы на поверхности клетки НМГК активирует различные внутриклеточные сигнальные пути, включая два главных каскада реакций инициации клеточного цикла: RAS-ERK1/2 и PI3K-АКТ (рис. 9.4).

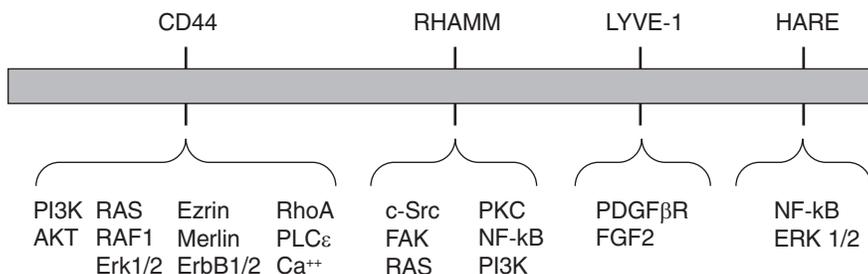


Рис. 9.4. Основные регуляторные белки клеточного цикла, активируемые через различные рецепторы гиалуроновой кислоты (Karousou et al., 2023)

Активация гиалуронатом внутриклеточных сигнальных путей требует сложного взаимодействия цитодоменов различных поверхностных рецепторов (рис. 9.5). Расположенные близко на поверхности клетки рецепторы способны взаимодействовать друг с другом через свои внеклеточные части (эктодомены) или цитоплазматические части (ICD) (Khabarov et al., 2015; Park J. et al., 2016; Porsch et al., 2014; Zhang et al., 2019a).

НМГК натурально производится синтетазой HAS3 при воспалении и онкологии (Kuo Y. et al., 2017; Chen Q. et al., 2023), но в основном образуется при деградации высокомолекулярных фракций ГК (ВМГК) посредством гиалуронидаз HYAL1, HYAL2, TMEM2 или KIAA1199 (Хабаров, Бойков, 2016; Бойков, Хабаров, 2018; Kobayashi et al., 2020; Krupkova et al., 2020). Установление зависимости между массой НМГК

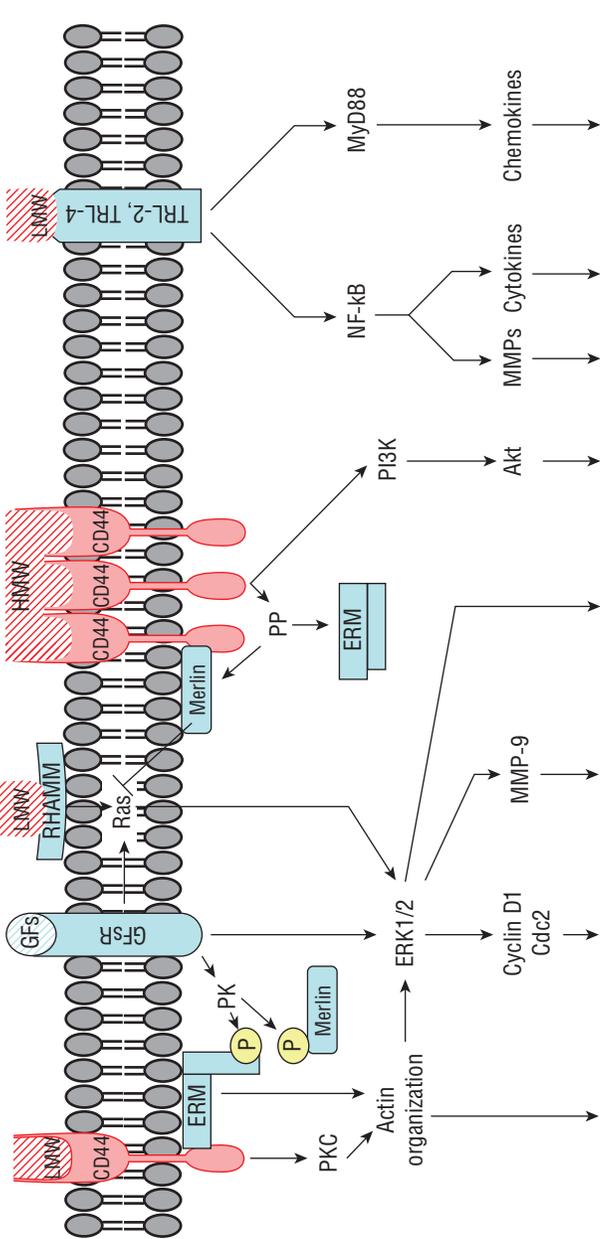
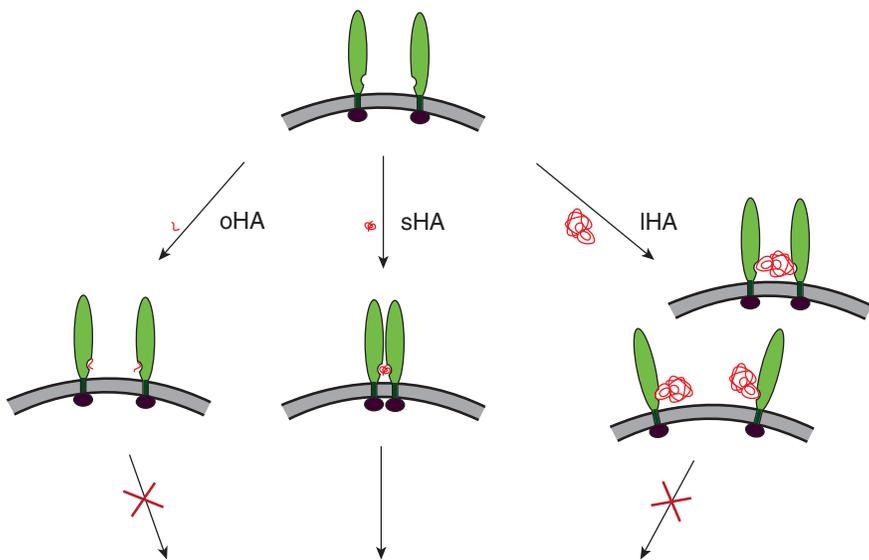


Рис. 9.5. Активация внутриклеточных сигнальных путей посредством взаимодействия гиалуронана с поверхностными клеточными рецепторами (Pufe, Assosian, 2009)

и эффективностью инициации клеточного цикла *in vitro* указывает, что в этот процесс *in vivo* могут быть вовлечены различные типы рецепторов (Kage et al., 2014; Хабаров и др., 2020а). В частности, добавление фрагментов размером 4–25 дисахаридов активировало пролиферацию клеток лимфатического эндотелия, но только через рецепторы LYVE-1 (Bauer et al., 2018; Хабаров, Иванов, 2020). Олигомеры гиалуронана в диапазоне 2–10 дисахаридных блоков (800–4000 Да) индуцировали пролиферацию клеток сосудистого эндотелия, но не других типов нормальных клеток, через рецепторы RHAMM (Хабаров и др., 2020а; 2021). При этом НМГК также индуцировала транскрипцию гена RHAMM как в нормальных, так и в трансформированных клетках путем усиления каскада CD44/РКСδ/c-fos-c-jun. Данные по активации цикла для рецептора CD44 противоречивы — от связывания 10 дисахаридов (4 кДа) (Wang et al., 2011) до молекул с минимальной массой 700 кДа (Mizrahy et al., 2011; Хабаров, Бойков, 2016). Через контакт с CD44 фрагменты гиалуронана ускоряют синтез ВМГК, активируя ген синтетазы HAS2 (Schmitz et al., 2010; Хабаров и др., 2021). Обработка олигосахаридами массой около 250 кДа стимулировала экспрессию гена *CD44*, а также генов коллагенов III и I типа (D'Agostino et al., 2017). Взаимодействие CD44 с крупными макромолекулами гиалуронана является по существу необратимым, в то время как более мелкие фрагменты (с молекулярной массой ≤ 10 кДа) связываются с рецептором обратимым образом. Взаимодействие олигомеров полисахарида с CD44 индуцирует активацию белка эзрина, что приводит к индукции клеточного цикла и пролиферации клеток. Молекулярная масса ГК, вероятно, влияет на пролиферацию клеток и через их связывание с мембранным белком лейлином, который необходим для межклеточных контактов. Воздействие полисахаридных фрагментов на клетку, может осуществляться извне и изнутри, но внутриклеточные функции гиалуронана остаются фактически неизвестными (Skandalis et al., 2020; Хабаров, 2024). Внешние воздействия реализуются через рецепторы, рассмотренные нами выше в тексте. Общепринятого в научном сообществе объяснения функциональной специфичности отдельных диапазонов молекулярной массы гиалуронана пока не сформулировано. Прямой установленной связи не дают и недавние эксперименты *in vitro*, показавшие, что молекулы с массой менее 100 кДа обладают стержнеподобной структурой, а молекулы с массой более 300 кДа — структурой типа клубка, причем в диапазоне масс 150–250 кДа происходит конформационный переход «стержень/клубок» (Khabarov et al., 2015; Weigel, Baggenstoss, 2017). Биологический смысл этого феномена продолжают

обсуждать во многих работах. Эксперименты показали, что очень большая макромолекула (массой более 400 кДа) или очень маленькая (массой менее 40 кДа) не активирует ERK-NF- κ B-опосредованную экспрессию генов, даже если рецептор связывается с этими лигандами (Harris, Cabral, 2019). Поэтому конкретно для HARE была предложена модель, предполагающая, что только его устойчивый димерный комплекс функционален (рис. 9.6). Возможно, эта модель применима и к рецептору CD44.

Одним из главных триггеров инициации клеточного цикла у покоящихся клеток является трансформирующий фактор роста TGF- β 1. В то время как дермальные фибробласты начинают пролиферировать в ответ на воздействие фактора TGF- β 1, фибробласты полости рта проявляют противоположную реакцию на этот цитокин (Meran et al., 2011). Искусственно повышенная экспрессия гена *HAS2* в клетках полости рта (*in vitro*) приводит к пролиферативному, CD44-зависимому ответу на воздействие TGF- β 1. EGF и его рецептор EGFR необходимы для ин-



ERK Activation and NF κ B-Mediated Gene Activation

Рис. 9.6. Связывание гиалуронана (в диапазоне молекулярной массы 40–400 кДа) с рецептором HARE позволяет сформироваться его димерному комплексу и стимулирует ERK-NF- κ B-опосредованный каскад реакций активации многих ядерных генов, включая гены иницирования цикла деления клетки

дукции такой пролиферации. Повышенная концентрация гиалуронана способствует связыванию EGFR и CD44, активируя передачу сигнала по пути ERK1/2. Таким образом, в среде, богатой гиалуронатом, поздняя активация ERK1/2 является результатом объединения функций EGFR/CD44 и приводит к пролиферативному ответу на TGF- β 1 (Rojas et al., 2009; Хабаров и др., 2020а). Интересно, что, в отличие от своего участия в активации генов *HAS1* и *HAS2*, TGF- β 1 подавляет (пропорционально своей концентрации) экспрессию гена *HAS3* (Stuhlmeier, Polaschek, 2004; Хабаров, 2024) (рис. 9.7).

Цитоплазматический домен CD44 как кофактор транскрипции генов цикла. Цитоплазматический «хвост» CD44 (25 кДа домен CD44-ICD) служит в качестве реакционной платформы, привлекая к себе различные ключевые регуляторные белки для их последующего активирования (обычно фосфорилированием). Будучи связанным с внутренней поверхностью цитомембраны, CD44-ICD способен напрямую взаимодействовать с другими внутриклеточными молекулами (в частности,

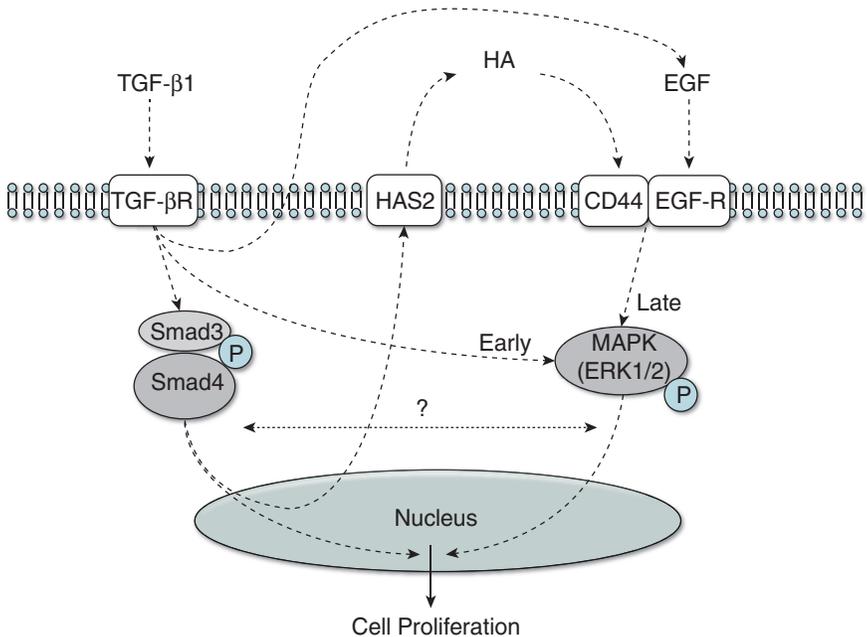


Рис. 9.7. Комплексный механизм индукции пролиферации нормальных фибробластов дермы человека после стимуляции цитокином трансформирующего фактора роста- β 1 (Meran et al., 2011). P — фосфорилирование

с тирозинкиназой HER2), которые в нормальных условиях находятся в неактивном состоянии (Carpenter, Pozzi, 2012; Hartmann et al., 2015). Для того чтобы CD44-ICD индуцировал дальнейшие реакции, необходимо отсоединение от него белка мерлина (Marcotti et al., 2018). Этот процесс осуществляется через фосфорилирование мерлина протеинкиназой PKC, которая сама активируется в результате взаимодействия рецепторов факторов роста с различными факторами роста. Затем место мерлина занимает комплекс эзрин-радиксин-моззин, связывающий CD44-ICD с белком-актином цитоскелета. Таким образом, имеет место синергетическое взаимодействие гиалуроновой системы с митоген-активированными мембранными рецепторными комплексами, активирующими далее ряд киназ. В результате происходит перестройка цитоскелета и активация каскадов реакций клеточного цикла, включая «нестандартный» путь ERK1/2-CycD1-CDK1 (рис. 9.8) (Kim Y. et al., 2008; Pure, Assosian, 2009).

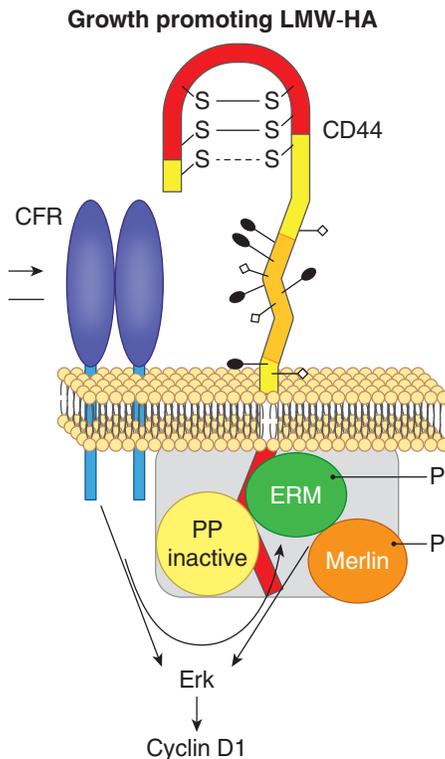


Рис. 9.8. Синергизм действия низкомолекулярной гиалуроновой кислоты и факторов роста в активации клеточного цикла. LMW — низкомолекулярная гиалуроновая кислота; PP — протеинфосфатаза; GFR — обобщенный рецептор факторов роста; ERM — объединенное название для белков эзрина, радиксина, моззина

Отщепление (шеддинг — shedding) внешнего эктодомена CD44 может происходить при его взаимодействии с провоспалительными цитокинами, факторами роста, окислительными радикалами (АФК) и другими лигандами (например, при избытке ионов Ca^{++}) (Chen, Hung, 2015; Lichtenthaler et al., 2018; Skandalis, 2023). Шеддинг эктодомена CD44 вызывается также фрагментами гиалуронана, но лишь очень узкого диапазона массы: 2400–16000 Да (6–40 дисахаридов) (Sugahara et al., 2006; Хабаров, Бойков, 2016). За этим отщеплением неизбежно следует активирование фермента (γ -секретазы — γ -secretase), которая отделяет цитоплазматический домен CD44 от внутримембранной части (Oikawa, Walter, 2019; Merilahti, Elenius, 2019). Отщепленный CD44-ICD транспортируется в ядро (Jaszwinska et al., 2010), где объединяется с различными транскрипционными факторами, в частности с CBP/P300, RUNX2, c-FOS и c-JUN, и усиливает экспрессию ряда генов, в том числе своего собственного гена *CD44* (Miletti-Gonzalez et al., 2012). CD44-ICD переносит в ядро фактор STAT3, и этот комплекс коактивирует ряд генов цикла, включая ген циклина D1 (Carpenter, Lo, 2014; Yeh, Frank, 2016). CD44-ICD приводит к совместной активации с c-MYC ген фосфатазы CDC25A, необходимой для инициации и развития цикла (Lee H. et al., 2019). Вызванные отщеплением CD44-ICD изменения в структуре цитоскелета влияют на морфологию клетки и, соответственно, на ее контакты с ГК, коллагеном, эластином и другими белками межклеточного матрикса (Хабаров, 2024). Поскольку морфология цитомембраны регулирует активность поверхностных рецепторов, это приводит к изменению функционирования внутриклеточных сигнальных путей. С другой стороны, внешние механические воздействия на клеточную мембрану также изменяют ее морфологию. Клетки в живом организме даже при наличии сильного митогена не переходят из фазы G_1 в фазу S цикла, если форма их поверхности и связанный с ней цитоскелет «сигнализируют» о неблагоприятной внешней обстановке (Shatirishvili et al., 2016). НМГК может влиять на клеточный цикл и опосредованно, в частности через регуляцию активности генов MMP (Hanabayashi et al., 2016). Увеличение их активности способствует разжижению околоклеточных коллагеновых структур матрикса и этим освобождает жизненное пространство для пролиферации будущей дочерней клетки (Govindaraju et al., 2019).

9.2.2. Связываясь с низкомолекулярной гиалуроновой кислотой, рецептор RHAMM функционирует как регуляторный белок клеточного цикла

НМГК активирует гены инициации клеточного цикла через активацию комплексных поверхностных рецепторов, таких как RHAMM/GFR или CD44/RHAMM (рис. 9.9) (Park D. et al., 2012; Nikitovic et al., 2013; Veiseh et al., 2015; Хабаров и др., 2021).

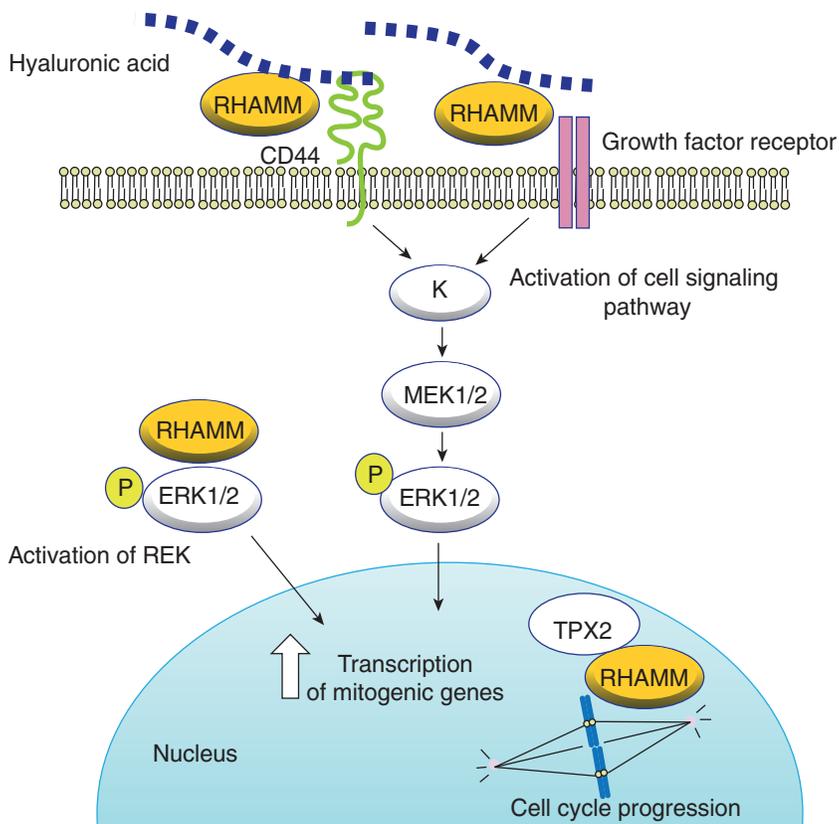


Рис. 9.9. Гиалуронан индуцирует взаимодействие между внеклеточными CD44, RHAMM, внеклеточной частью киназы PKC δ и интегринными $\alpha 4\beta 1/\alpha 5\beta 1$. Цитоплазматический домен PKC δ участвует в активации пути киназ ERK1/2. Внутри клетки RHAMM напрямую связывается с киназами ERK1/2 и MEK1 и белком тубулином в качестве каркасного белка, нацеливающего эти киназы на перемещение в ядро

В конце фазы G_1 фактор E2F1 напрямую активирует ген RHAMM. Со своей стороны, RHAMM служит коактиватором E2F1, опосредуя, в частности, транскрипцию фибронектина (Meier et al., 2014). Далее активность белка RHAMM регулируется комплексом убиквитиназы BRCA1-BRAD1. Стимуляция фибробластов фактором TGF- β 1 заметно увеличивала транскрипцию гена и экспрессию белка RHAMM на клеточной поверхности и была опосредована через SMAD3-YAP-зависимый путь (Sun Y. et al., 2021). RHAMM может быть потенциально активирован у нормальных клеток через путь β -катенин/c-MYC при определенных стрессовых условиях. Внутриклеточный RHAMM взаимодействует с BRCA1 и киназами ERK1/2. НМГК активировала комплекс CD44/PKC δ и зависимую от него последующую транслокацию факторов c-Fos/c-Jun (AP-1) в ядро, что приводило к усилению транскрипции RHAMM. Уровень белка RHAMM соответствуют экспрессии его мРНК до S-фазы, где он достигает пика, но затем по неустановленным причинам и механизму уменьшается до того, как уровень его мРНК достигает максимума в фазах G2/M (Carvalho et al., 2022). Внутри клетки объединенный с фрагментированным гиалуронатом RHAMM функционирует как важный белок клеточного цикла, путем связывания и активирования комплекса CDK1-CycB1. Он также участвует в сборке и поддержании целостности митотического хромосомального веретена, образовании микротрубочек и прохождении через фазы G2/M (Chen et al., 2015; 2023).

9.3. ГИАЛУРОНОВАЯ СИСТЕМА В КЛЕТОЧНОМ ЦИКЛЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

До недавнего времени было очень мало данных о молекулярных механизмах, передающих сигнал от гиалуронана на поверхности клетки к регуляторным областям генов инициации клеточного цикла в ядре. Накопленные к настоящему времени сведения по экспериментам *in vitro* позволяют сделать вывод, что *in vivo* НМГК и ее рецепторы вовлекаются в процессы клеточного цикла после его первичной инициации провоспалительными факторами (Хабаров, Бойков, 2016). Опухолевые клетки характеризуются значительно повышенным количеством активных CD44-рецепторов. Через них индуцируются многие необходимые для непрерывной пролиферации процессы. Для прераковых клеток самым критическим моментом во всем клеточном цикле является переход G_0/G_1 . Покоящиеся диссеминированные опухолевые