

УДК 547.995.15+577.151

ГИАЛУРОНОВАЯ КИСЛОТА – «СТАРАЯ» МОЛЕКУЛА С «НОВЫМИ» ФУНКЦИЯМИ: БИОСИНТЕЗ И ДЕПОЛИМЕРИЗАЦИЯ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ У БАКТЕРИЙ И В ТКАНЯХ ПОЗВОНОЧНЫХ, В ТОМ ЧИСЛЕ В ПРОЦЕССАХ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Обзор

© 2015 Р.Н. Цепилов^{1*}, А.В. Белодед²

¹ Институт эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика
Н.Ф. Гамалеи РАМН, 123098 Москва; факс: +7(499)193-6183,
электронная почта: biorad@gamaleya.org

² Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
125047 Москва; факс: +7(495)495-2379, электронная почта: biotech@muctr.ru

Поступила в редакцию 07.11.14
После доработки 27.02.15

Гиалуроновая кислота – эволюционно древняя молекула, часто встречающаяся в тканях позвоночных и в капсулах некоторых бактерий. В обзоре представлены современные данные о строении, свойствах и биологических функциях гиалуроновой кислоты у млекопитающих и бактерий рода *Streptococcus*. Рассмотрены различные аспекты биосинтеза и деградации гиалуроновой кислоты; описаны метаболический путь биосинтеза и ферменты синтеза и расщепления гликозаминогликана, дана характеристика генов гиалуронатсинтаз позвоночных и бактерий. Особое внимание обращено на механизмы проявления биологического действия гиалуроновой кислоты, на взаимодействие полисахарида и различных белков. Описаны известные сигнальные пути с участием гиалуроновой кислоты. Нарушение метаболизма гиалуроновой кислоты, изменения молекулярной массы биополимера, гиалуронидазной активности и изоформ фермента часто сопровождают процессы канцерогенеза. Рассмотрено взаимодействие клеток и гиалуроновой кислоты межклеточного матрикса, которое может иметь значение в процессах малигнизации. Обсуждается предполагаемая роль высокомолекулярной гиалуроновой кислоты в устойчивости голого землекопа к онкологическим заболеваниям и протекторная роль гиалуроновой кислоты у бактерий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гиалуроновая кислота, гиалуронатсинтазы, гиалуронидазы, гиаладгерин, голый землекоп, бактерии рода *Streptococcus*.

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ И ИЗУЧЕНИЯ ГК

В 2014 г. исполнилось 80 лет со дня открытия гиалуроновой кислоты (ГК). Первое упоминание о необычном полисахариде было сделано в работе Мейера и Палмера, опубликованной в «Journal of Biological Chemistry» [1]. Из стекловидного тела бычьего глаза они выделили кислый полисахарид с крайне высокой молекуляр-

ной массой. И именно эти авторы предложили название «гиалуроновая кислота» («hyaluronic acid»: от «hyaloid» – стекловидный и «uronic acid» – уоновая кислота). В настоящий момент в англоязычной литературе более широкое распространение получает термин гиалуронан (hyaluronan), применяемый для обозначения всех форм ГК и ее солей – гиалуронатов.

На протяжении всего времени, прошедшего с момента открытия, интерес к ГК в научном мире не ослабевал. Но лишь через 20 лет после выхода первой статьи (несмотря на неподдельный интерес, выказанный к тому времени во всем мире к гликозаминогликанам) полная структура и мономерный состав ГК были окончательно установлены. Решение проблемы было связано, в первую очередь, с исследованием действия на ГК бактериальных гиалуронатлиаз

Принятые сокращения: ГК – гиалуроновая кислота; УГШ – углеводно-голодный шок; HAS – бактериальная гиалуронатсинтаза; HAS(1–3) – гиалуронатсинтазы позвоночных; *has(1–3)* – гены гиалуронатсинтаз позвоночных; *hasABC* – оперон биосинтеза гиалуроновой кислоты у бактерий; HYAL-(1–4), HYAL-P1 и PH20 – гиалуронидазы человека; *hylA* – ген стрептококковой гиалуронатлиазы.

* Адресат для корреспонденции.

и тестикулярных гиалуронидаз, а также с дальнейшим развитием гликобиологии. Тот же Мейер опубликовал в «Nature» в 1954 г. результаты исследования продуктов расщепления ГК [2], в статье также приведена структурная формула дисахарида, являющегося продуктом расщепления ГК стрептококковой гиалуронатлиазой (рис. 1).

ХИМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ И ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА ГК

По своему химическому строению ГК относится к группе кислых мукополисахаридов или гликозаминогликанов. Молекула ГК построена из регулярно чередующихся остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина. Аминосахар в молекуле ГК соединен с D-глюкуроновой кислотой β -(1 \rightarrow 4) гликозидной связью, а глюкуроновая кислота с аминосахаром β -(1 \rightarrow 3) гликозидной связью (рис. 1). Таким образом, ГК — это анионный (в области физиологических значений pH), линейный полисахарид, молекулярная масса которого может различаться в зависимости от источника и метода выделения и составляет обычно 10^5 – 10^7 Да [3–5] или до 25 000 (и более) повторяющихся дисахаридных остатков. Другие химически родственные ГК гликозаминогликаны, например, хондроитинсульфат, кератансульфат, гепарансульфат имеют гораздо меньшую молекулярную массу и представлены многочисленными изомерами в силу наличия сульфатированных групп, количество и расположение которых в молекуле может существенно варьироваться. Тогда как ГК, выделенная из различных источников, всегда химически идентична, различаясь лишь молекулярной массой и практически никогда не связана с белками ковалентно.

С помощью рентгеноструктурного анализа ГК и ее солей и применения методов лазерного светорассеивания и ЯМР при исследовании растворов ГК обнаружено, что полимер может принимать множество разнообразных конформаций в соответствии с выбранными условиями исследования: ионным окружением, концентрацией, температурой и т.д. Молекула ГК может изгибаться и формировать левую одинарную и двойную спирали или даже образовывать многонитевые или плоские структуры [6–9], чему, возможно, способствуют образующиеся водородные связи и возникающие гидрофобные взаимодействия. Используя рентгеноструктурный анализ, Аткинс [10] показал, что и Na-соль, и K-соль ГК существуют в виде двойных спиралей. Дза [11] обнаружил, что двойные спирали

состоят из левых антипараллельных спиральных нитей. Гусс [12] и Уинтер [13] также предполагали наличие в структуре ГК участков двойной спирали в присутствии двухвалентных катионов. Клиланд [14–16] установил наличие подвижных колец в молекуле ГК с мол. массой более 100 кДа при средней ионной силе и нейтральных значениях pH раствора. Дарк с соавт. [17], используя ЯМР, обнаружили, что доля жесткой структуры в молекуле ГК составляет 50–70%. Это объяснялось наличием суперспиралей, состоящих из жестких сегментов, соединенных подвижными участками. При этом вязкоэластичные свойства растворов объясняли образованием динамической сетчатой структуры из жестких сегментов. Исследования, проведенные Рибитч, Шурц и Рибитч [18] методами вискозиметрии и лазерного светорассеивания в комбинации с рентгеноструктурным анализом, позволили установить, что наряду с двойной спиральной структурой существуют сверхспирализованная конформация, отдельные участки плотного микрогеля, а с возрастанием концентрации ГК в растворе образуется межмолекулярная сетка.

Электронная микроскопия показывает, что сетчатая структура для растворов высокомолекулярной ГК (мол. масса 1 Мда и более) образуется уже при очень низких концентрациях [6, 19]. Сеть из молекул ГК высокой молекулярной массы на электронных микрофотографиях с роторным напылением не демонстрирует концов молекул. Сеть имеет как бы бесконечную протя-

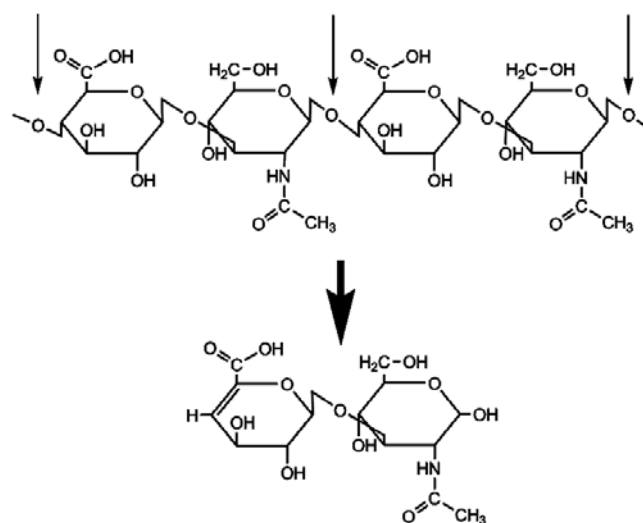


Рис. 1. Структурная формула молекулы ГК и дисахарида — конечного продукта ее расщепления стрептококковой гиалуронатлиазой. Связи, атакуемые ферментом, показаны тонкими стрелками

женность в растворе. В противоположность этому низкомолекулярная ГК хотя и формирует сеть, но образованные ячеистые сетки имеют островную структуру, где отдельные участки отделены друг от друга существенными промежутками [6].

Важным моментом является то, что данные сети упорядочены. Электростатическое отталкивание карбоксильных групп и, в противовес ему, водородные связи между атомом водорода ацетамидной группы и кислородом карбоксильной группы и гидрофобное взаимодействие с участием пиранозных колец моносахаридных звеньев делают наиболее энергетически выгодной антипараллельную структуру межмолекулярной сети ГК. Это может иметь большое значение в межклеточной коммуникации и организации, например, в процессах морфогенеза. К тому же было обнаружено, что конкретная принимаемая молекулой ГК *in vivo* структура зависит от гидродинамических условий, химического окружения и присутствия специфически связывающихся с ГК биополимеров. Так, наиболее протяженные цепи, волокна и сети могут формироваться в узком межклеточном пространстве, а свободные кольцевые и клубковые формы встречаются в жидких соединительных тканях. Тяжелые цепи и протяженные сети более уместны в тесном окологклеточном пространстве или у межклеточной ГК. Следовательно, структуру ГК *in vivo* следует рассматривать как продукт конформационного репертуара ГК и локального влияния окружения.

НАЛИЧИЕ ГК У РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Как уже отмечалось, ГК была выделена из стекловидного тела глаза быка [1]. Впоследствии было показано, что ГК в тех или иных концентрациях встречается в составе почти всех тканей и жидкостей человека и других млекопитающих [20]. При анализе литературных данных выясняется, что ГК встречается в различных тканях всех позвоночных животных [21–25], геном которых, как оказалось, содержит ген(ы) синтеза ГК, в первую очередь, гены гиалуронатсинтаз [26–29].

В то же время ГК у представителей эволюционно более древних организмов, например, простейших, губок, кишечнорастворимых, червей, членистоногих и иглокожих, а также некоторых примитивных хордовых отсутствует. Повидимому, это указывает на возникновение способности к синтезу ГК (появлению гена гиалуронатсинтазы) у одной эволюционирующей

ветви хордовых. Тем более удивительным кажется факт обнаружения и выделения в чистом виде ГК у некоторых представителей двусторчатых моллюсков, например, *Mytilus galloprovincialis* и *Amusium pleuronectus* [30, 31]. Последнее, однако, требует дополнительного подтверждения, поскольку еще не описаны ферменты синтеза ГК и гены, их кодирующие у моллюсков.

И еще более интересным оказывается факт наличия гена гиалуронатсинтазы у вируса PBCV-1 (*Paramecium bursaria Chlorella virus*), паразитирующего на зеленой одноклеточной водоросли [32]. Инфицированная водоросль начинает синтезировать ГК спустя 10 мин после проникновения вируса и уже через 15–30 мин полимер обнаруживается вне клетки, а к 240-й минуте инфицированная клетка покрыта капсулой из ГК [32, 33]. По некоторым оценкам ген вирусной гиалуронатсинтазы на 28–30% идентичен генам гиалуронатсинтазы позвоночных и бактерий рода *Streptococcus* [32]. Открытие гена гиалуронатсинтазы у PBCV-1 удивительно по двум причинам: ранее считалось, что геномы вирусов обычно не кодируют гликозилтрансфераз, а используют ферменты хозяина для образования вирусных гликоконъюгатов; ГК ранее была обнаружена только у высших животных и некоторых патогенных бактерий [32]. Кроме того, синтез ГК инфицированной микроводорослью – это единственный пример синтеза ГК в царстве растений, а биологическую роль ГК как для вируса, так и для *Chlorella* в этом случае еще предстоит определить.

Встречается ГК и у некоторых бактерий. Кендалл, Гайдельбергер и Доусон в 1937 г. сообщили о выделении из культуральной жидкости гемолитического стрептококка группы А полисахарида, осаждающегося уксусной кислотой и этиловым спиртом [34]. Химический анализ впоследствии подтвердил предположение о том, что полисахарид является ГК. Позже ГК была открыта в капсуле и слизи других грамположительных бактерий рода *Streptococcus*, принадлежащих к группам А и С по классификации Лэнсфилд [35–38]. Была найдена ГК и в капсуле грамтрицательной бактерии *Pasteurella multocida* [39, 40]. На первый взгляд кажется странным, что прокариотические организмы способны синтезировать полимер, в точности соответствующий полисахариду позвоночных животных. Однако, если обратить внимание на экологическую нишу, которую занимают представители бактерий, образующих ГК, то становится ясно, какое адаптивное и эволюционное значение имело приобретение капсулы из ГК. Дело в том, что большинство микроорганизмов, образующих ГК, в той или иной степени являются

патогенами высших животных, а некоторые, и человека. *Streptococcus uberis* – возбудитель заболеваний крупного рогатого скота, *Streptococcus equisimilis* – неспецифический патоген млекопитающих, *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes* – возбудители заболеваний человека, а *P. multocida* – птичий патоген. Вероятно, по взаимствував оперон синтеза ГК у своих хозяев в процессе латерального переноса генов, данные микроорганизмы окружили себя массивной капсулой из ГК, с помощью которой преодолевают клеточный и гуморальный иммунный ответ хозяина.

Подводя итог, можно сказать, что ГК является гликозаминогликаном, в первую очередь, позвоночных животных, однако представленным и у некоторых микроорганизмов.

МНОГООБРАЗИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ ГК У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

ГК является одним из главных полимерных компонентов межклеточного матрикса многих тканей позвоночных, хотя не так давно было показано, что полисахарид может иметь и внутриклеточную локализацию [41, 42]. В соединительной ткани ГК формирует относительно мало плотный, но сильно гидратированный матрикс, позволяющий клеткам делиться, мигрировать, в том числе и в процессах эмбрионального морфогенеза. Содержание ГК в различных тканях человека в норме существенно варьирует: от 0,01–0,1 мкг/мл в сыворотке крови человека и 0,2–50 мкг/мл в лимфе до 100 мкг/г в эпидермисе и 200–500 мкг/г в дерме [20]. Наибольшая концентрация ГК обнаруживается в стекловидном теле глаза, в синовиальной жидкости (до 3600 мкг/мл) и пупочном канатике новорожденных [20], где она выполняет, в первую очередь, структурную и защитную функции. У других млекопитающих и птиц распределение ГК в тканях и органах в целом аналогично. Так, например, эпидермис мыши содержит 25–87 мкг/г. Есть и места специфической локализации ГК. Например, в петушиных гребнях содержание ГК доходит до 7500 мкг/г [20], что до сих пор используют для промышленного получения гликозаминогликана.

Почти 50% ГК человеческого организма содержится в коже [20]. Помимо того, что полимер служит структурным образованием матрикса, в котором расположены клетки, ГК кожи выполняет еще ряд важных функций. ГК удерживает воду в ткани, равномерно распределяя ее, сохраняет объем кожи и ее эластичные и упругие свойства. ГК и продукты ее расщепления слож-

ным образом влияют на пролиферацию, дифференциацию и эмбриональный морфогенез [43–46], а также на восстановление тканей при нарушении кожных покровов и ожогах. Изменение содержания и молекулярной массы ГК наблюдается при старении, воздействии УФ, дегенеративных заболеваниях (уменьшение обоих показателей), в процессах ранозаживления, что также свидетельствует о важной роли ГК в коже [47]. Кроме того, в коже, служащей барьером между внутренними органами и враждебной окружающей средой, ГК играет защитную роль поглотителя свободных радикалов, образующихся под действием УФ излучения солнца.

В хрящевой ткани ГК выполняет функцию структурного элемента матрикса, формируя центр связывания для агрегана – большого хондроитинсульфатпротеогликана, который удерживается в матриксе в состоянии макромолекулярного конгломерата благодаря специфическим взаимодействиям ГК и белков [48]. Данные агрегаты имеют колоссальную мол. массу до 100 МДа и встроены в коллагеновый каркас [49].

В синовиальной жидкости высокая концентрация ГК большой молекулярной массы обеспечивает необходимую смазку для подвижных частей сустава и служит амортизатором, уменьшая трение между двигающимися костями и износ сустава. При воспалительных заболеваниях (остеоартрит, ревматоидный артрит) высокомолекулярная ГК разрушается, как предполагают, под действием кислородных радикалов, что уменьшает вязкость синовиальной жидкости и ведет к ослаблению функции амортизатора и смазки. Это ухудшает движение сустава, которое сопровождается болью [50].

Хотя изначально полагали, что ГК выполняет главным образом роль инертного матрикса, заполняющего соединительную ткань, последующее обнаружение и изучение белков, связывающихся с ГК, специфических рецепторов ГК продемонстрировало способность полисахарида проявлять другие биофункциональные активности [51]. Как показано в последнее время, ГК играет важную роль в эмбриогенезе, передаче сигналов и клеточной подвижности, а также связана с развитием опухолевых процессов, инвазией трансформированных клеток в окружающие ткани и метастазированием [52]. Более того, несмотря на свою регулярную и простую первичную структуру, ГК имеет очень широкий спектр часто взаимопротивоположных биологических функций в зависимости от размера молекулы. ГК высокой молекулярной массы, такой как у ГК матрикса (более 1 МДа), является структурой, заполняющей межклеточное пространство, проявляет антиангиогенные и иммуно-

супрессорные свойства. В ходе разнообразных физиологических и патологических процессов, например, повреждения ткани, воспаления, метастазирования могут возникать и накапливаться фрагменты ГК малой и средней молекулярной массы. ГК со средней мол. массой 250 кДа инициировала экспрессию генов в макрофагах и эозинофилах, активирующихся в ходе нормального воспалительного процесса, тогда как высокомолекулярная ГК не обладала такими свойствами [51, 53–58]. Гликозаминогликан небольшого размера, состоящий из 25–50 дисахаридов, проявляет иммуностимулирующие, ускоряющие развитие воспалительного процесса, и сильные ангиогенные свойства [59, 60] и вызывает экспрессию генов воспаления в дендритных клетках [61]. Олигосахариды еще меньшего размера являются индукторами белков теплового шока и антиапоптозными факторами [62]. Эти олигосахариды малой молекулярной массы, по-видимому, являются эндогенными сигналами тревоги. Олигомеры из 8–16 дисахаридных единиц индуцировали процессы ангиогенеза в роговице цыпленка [56]. Опубликованные данные указывают на необычайно широкий спектр размероспецифической активности ГК [63], причем, как правило, относительно низкомолекулярная ГК, обнаруживаемая при канцерогенезе, воспалительных процессах или повреждении тканей, активирует транскрипцию генов, задействованных при пролиферации и участвующих в миграции клеток.

Таким образом, функции ГК у позвоночных весьма обширны. Иногда важная механическая или структурная роль очевидна, например, в случае синовиальной жидкости, хрящевой ткани, стекловидного тела глаза или пупочного канатика. Однако многие функции еще предстоит выяснить. ГК – довольно древняя молекула, у нее было достаточно времени развить различные функции по мере возрастания сложности биосферы.

БИОСИНТЕЗ И ДЕГРАДАЦИЯ ГК

Для биосинтеза ГК требуются активированные предшественники в виде UDP-глюкуроновой кислоты и UDP-*N*-ацетилглюкозамина. Данный способ активации предшественников повсеместно встречается при биосинтезе полисахаридов. Глюкуроновая кислота синтезируется из глюкозы в форме UDP-производного в ходе нескольких последовательных реакций. UDP-*N*-ацетилглюкозамин синтезируется из *N*-ацетилглюкозамин-1-фосфата при помощи пирофосфорилазы (EC 2.7.7.23) на последней стадии пу-

ти образования соответствующего предшественника ГК из фруктозо-6-фосфата (рис. 2). Далее, в ходе гликозилтрансферазной реакции единственный фермент гиалуронатсинтаза (EC 2.4.1.212) последовательно переносит синтезирующуюся цепь ГК на UDP-производные *N*-ацетилглюкозамина и глюкуроновой кислоты в строгой очередности.

Для того чтобы удлинить цепь ГК на дисахаридный остаток, гиалуронатсинтаза должна осуществлять, по меньшей мере, шесть различных функций: связывание двух субстратов (UDP-глюкуроновой кислоты и UDP-*N*-ацетилглюкозамина), две различные гликозилтрансферазные активности, удерживание растущей цепи ГК в одном или большем количестве сайтов связывания ГК и способность передвигать цепь ГК внутри фермента для нового раунда синтеза полимера. UDP-сахара синтезируются и вовлекаются ферментом в синтез ГК внутри клетки [64], а цепь ГК выходит через мембрану.

Эксперименты с бесклеточными препаратами гиалуронатсинтаз различных тканей млекопитающих показали их практически идентичное поведение [65–68]. Ферменты млекопитающих локализованы в цитоплазматической мембране клетки, а растущая полисахаридная цепь ГК экструдируется в межклеточное пространство [67], что, надо отметить, несвойственно для поведения гликозилтрансфераз, вовлеченных в процессы гликозилирования гликопротеинов или элонгации родственных ГК гликозаминогликанов, которые синтезируются у клеток млекопитающих в аппарате Гольджи.

В настоящее время выделяют два класса гиалуронатсинтаз (HAS): гиалуронатсинтазы позвоночных и стрептококков (I класс), а также гиалуронатсинтаза *P. multocida* (II класс). Гиалуронатсинтаза *S. pyogenes* содержит 419 а.о., *S. equisimilis* – 417, а фермент *Xenopus laevis* (HAS1) – 588, HAS1 мыши – 583, HAS2 – 552, HAS3 – 554 [69, 70, 26]. Центральный домен, который, как полагают, составляет до 88% внутриклеточного участка пептидной цепи белка, содержит каталитический центр фермента [71, 72]. В гиалуронатсинтазах млекопитающих домен включает 307–328 остатка, что составляет 54–56% пептидной цепи [69]. Также молекула белка включает обычно 4–6 трансмембранных и 1–2 мембранных доменов. Синтез ГК, по всей видимости, происходит в большом внутреннем домене, поэтому растущая цепь должна выходить наружу, «пронизывая» мембрану. Есть предположение, что этому процессу способствует кардиолипид, формируя, совместно с белком, пору в цитоплазматической мембране клетки. У позвоночных животных гиалуронатсинтазы, по сравне-

нию со стрептококковым ферментом, содержат несколько дополнительных доменов, которые, возможно, участвуют в транспорте ГК через мембрану, регуляции ферментативной активности, взаимодействии с другими белками клетки [69]. Полная последовательность первичной структуры гиалуронатсинтаз различных организмов приведена в [69].

Несмотря на существенный прогресс в понимании структуры и свойств ГК механизм синтеза макромолекулы полисахарида долгое время оставался нераскрытым. Стулмиллер и Дорфман в 1969 г. [37] предположили, что стрептококковая гиалуронатсинтаза синтезирует ГК путем добавления новых углеводных остатков к невосстанавливающему концу молекулы, что

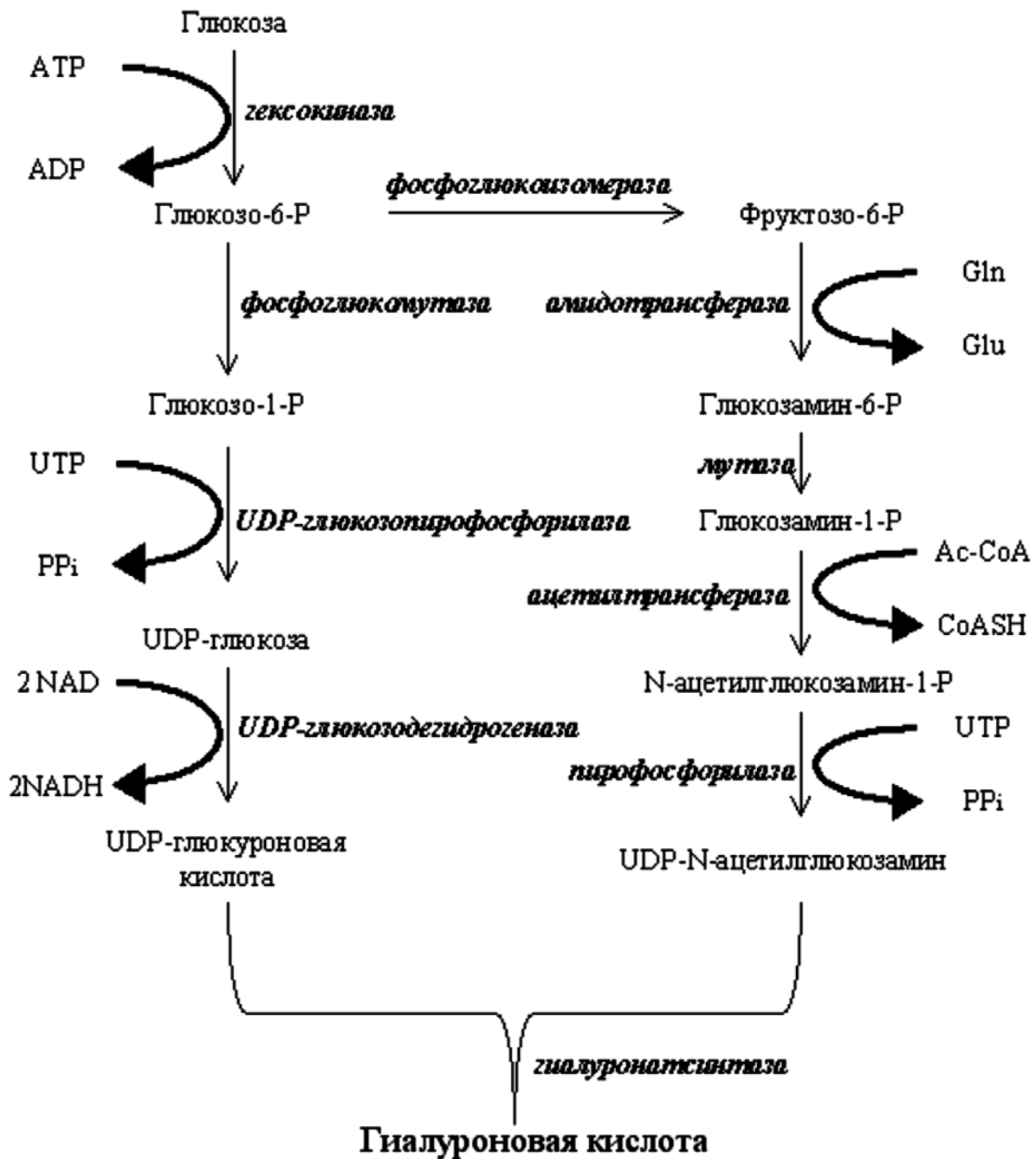


Рис. 2. Путь биосинтеза ГК у бактерий и позвоночных

впоследствии не подтвердилось. Прейм в 1983 г. [73] и Асплунд с соавт. в 1998 г. [74] получили доказательства присоединения остатков к восстанавливающему концу ГК. В настоящее время установлено, что механизм синтеза ГК у гиалуронатсинтаз бактерий рода *Streptococcus* и ферментов позвоночных (т.е. гиалуронатсинтаз I класса) одинаков – удлинение цепи молекулы происходит за счет присоединения остатков к восстанавливающему концу [69]. Степень гомологии гиалуронатсинтаз I класса составляет от 25% (если сравнивать стрептококковые ферменты и ферменты млекопитающих) до 90% (если сравнивать соответствующие изоферменты разных позвоночных). Также гиалуронатсинтазы первого класса нуждаются для проявления каталитической активности в липидах и кофакторе – ионах магния или марганца. Аминокислотная последовательность, пространственное строение и механизм катализа гиалуронатсинтазы II класса отличны от стрептококковой гиалуронатсинтазы и ферментов позвоночных [75]. Фермент бактерии *P. multocida* наращивает цепь ГК путем присоединения мономерных остатков к невосстанавливающему концу затравки [75].

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ ГИАЛУРОНАТСИНТАЗ У ПОЗВОНОЧНЫХ

У большинства хордовых, синтезирующих ГК (оболочники (*Urochordata*) еще не обладают способностью к синтезу ГК [76, 77]), существует обычно 3–4 гена гиалуронатсинтаз и, соответственно, изоформ фермента [78], которые обозначают HAS1–4, а гены, кодирующие их, *has1–4*. У *Xenopus laevis* существует три гена, кодирующих активные ферменты и один псевдоген. У млекопитающих (например, мыши) всего три гена. Эксперименты по генному нокауту у мышей показали, что наиболее существенную роль в жизнеспособности и развитии организма млекопитающих играет ген *has2* [46], тогда как функционирование *has1* и *has3* менее значимо. *Homo sapiens* также имеет три гена, кодирующих HAS1, HAS2 и HAS3, располагающихся в 19, 8 и 16 хромосомах. Кодируемые белки содержат 578, 552 и 553 а.о. в полипептидных цепях HAS1, HAS2 и HAS3 соответственно [79, 29, 80].

Нарушение регуляции генов гиалуронатсинтаз приводит к нетипичному уровню синтеза ГК и способствует «ненормальным» биологическим процессам: трансформации клеток и метастазированию. Функция генов, кодирующих HAS, как полагают, зависит от типа клеток и тканей. За синтез минимального (базового) уровня отвечает *has1*, *has2* задействован, в основном, в пе-

риод эмбриогенеза и отвечает за морфогенез многих органов и клеточную миграцию, активность гена в постэмбриональной стадии стимулирует пролиферацию и ангиогенез. Наконец, активность *has3* часто связана с процессами канцерогенеза. Точные функции каждой изоформы гиалуронатсинтазы и, следовательно, соответствующих генов еще предстоит выяснить.

ГИАЛУРОНИДАЗЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ДРУГИХ ОРГАНИЗМОВ

Уже накопилось достаточно много доказательств, что важнейшим фактором в проявлении той или иной биологической активности ГК является размер ее молекул [81, 82]. Например, ГК с мол. массой менее 1 МДа и даже небольшие олигосахариды оказывают влияние на ангиогенез, пролиферацию и миграцию клеток [56, 59, 83–92], тогда как крупные молекулы ответственны за свойства межклеточного матрикса, адгезию и миграцию клеток и процесс метастазирования [93–98]. Существуют данные, что размер молекул ГК определяется типом гиалуронатсинтазы, ее синтезирующей: HAS3 синтезирует ГК с мол. массой $\sim 10^5$, HAS1 – 2×10^5 – 2×10^6 , HAS2 продуцирует ГК, средняя мол. масса которой превышает 2 МДа [99]. Все исследованные гиалуронатсинтазы имели широкий спектр размеров молекул продуцируемой ГК. Есть сообщения о связи процессов малигнизации, пролиферации, канцерогенеза и метастазирования с уровнем мРНК различных изоформ фермента [100]. Вполне вероятно, что управляя экспрессией генов гиалуронатсинтаз, клетки могут изменять свойства окружающего матрикса в некоторых пределах, однако маловероятно, что гиалуронатсинтазы способны синтезировать короткие олигосахариды заданного размера в ощутимых количествах. За этот процесс отвечают гиалуронидазы – ферменты, гидролизующие ГК, и некоторые экзогликозидазы, например, гексозаминидаза.

Впервые различные гиалуронат-разрушающие ферменты были разделены на три класса Мейером в 1971 г. [101]. Данная классификация была основана на биохимическом анализе типа катализируемой ферментом реакции и продуктов реакции. Три принципиально различных типа «гиалуронидаз», катализирующих деполимеризацию ГК, представлены следующими классами: 1) гиалуроноглюкозаминидазы (гиалуронат-4-гликаногидролазы) или гиалуронидазы млекопитающих, например, тестикулярные гиалуронидазы (Е.С. 3.2.1.35) являются эндо- β -N-ацетилгексозаминидазами, расщепляющими

ГК до олигосахаридов, конечными из которых являются преимущественно тетра- и гексасахариды [102–105]. Данные ферменты, как правило, не обладают абсолютной субстратной специфичностью и могут гидролизовать хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат и дерматан-сульфат. Гиалуронидазы млекопитающих обладают также трансгликозилазной активностью, т.е. способностью, по крайней мере, *in vitro* формировать поперечные сшивки между молекулами ГК, а также между ГК и хондроитинсульфатом в матриксе тканей млекопитающих, что может иметь существенное биологическое значение; 2) гиалуроноглюкуронидазы (гиалуронат-3-гликаногидролазы) или гиалуронидазы из секрета пиявки (Е.С. 3.2.1.36) [106, 107], некоторых паразитов и ракообразных [108, 109] являются эндо- β -глюкуронидазами, гидролизующими ГК до тетра- и гексасахаридов; 3) гиалуронатлиазы или т.н. бактериальные гиалуронидазы являются эндо- β -ацетилгексозаминоэлиминазами. Представителем этого класса ферментов является стрептококковая гиалуронатлиаза (Е.С. 4.2.2.1).

В геноме человека обнаружено шесть генов гиалуронидаз, кодирующих изоформы ферментов, обозначаемые HYAL-1–4, HYAL-P1 и RH20. Гены локализованы по три в двух кластерах в 3 и 7 хромосомах [110–112]. Для синтеза гиалуронидаз характерно явление альтернативного сплайсинга [113]. Гиалуронидазы содержат 417–509 а.о., относятся к семейству белков гликозилгидролаз [56], содержат сходные мотивы и отличаются рядом свойств, таких как кинетические особенности, оптимум рН, глубина гидролиза ГК и т.д. Различные изоформы гиалуронидаз проявляют активность в тестикулах, печени, сыворотке крови, секрете простаты, моче и т.д. Активность гиалуронидаз в некоторых тканях служит диагностически значимым маркером заболеваний, связанных с метаболизмом ГК [114]. Локализация гиалуронидаз – наружная поверхность цитоплазматической мембраны или лизосомы клетки [115], некоторые гиалуронидазы секретируются [116].

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГК И БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ, СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ С УЧАСТИЕМ ГК

Все регуляторные функции, да и некоторые другие тоже, с участием ГК у позвоночных осуществляются через взаимодействие с клеточными рецепторами, специфичными к гликозаминогликану. Белки, специфично связывающиеся с ГК, часто именуют гиаладгеринами. На дан-

ный момент уже известны десятки таких белков, характеризующихся разнообразием функций, тканевой принадлежностью и клеточной локализацией, специфичностью, аффинностью и другими свойствами, и их список постоянно пополняется. Наиболее известные и изученные гиаладгерины – кластер дифференциации CD44, белок, стимулирующий ген фактора некроза опухоли-6 (TSG-6), рецептор гиалуронат опосредованной подвижности (RHAMM), мембранный гликопротеин CD38, интер- α -ингибитор и некоторые другие.

Повсеместно встречающийся интегральный белок-рецептор CD44 выполняет разнообразные функции, включая прикрепление клеток к матриксу, организацию ткани и регуляцию образования и разрушения матрикса, а также миграцию некоторых клеток, например, лимфоцитов в область воспаления [87]. Поскольку строение рецептора CD44 определяется вариантом осуществляемого альтернативного сплайсинга, существует множество его изоформ, характерных для разных типов клеток [117–120]. Связывание CD44 с молекулой ГК осуществляется в специальном участке – «гиалуронат-связывающем сайте» или «протеогликановом тандемном повторе», располагающемся во внеклеточном домене рецептора. Внутриклеточные домены различных изоформ CD44 взаимодействуют с цитоскелетом и запускают специфические сигнальные пути с участием различных тирозинкиназ, например, p185^{HER2} и c-Src киназ [121, 122]. С тирозинкиназой p185^{HER2} рецептор связан дисульфидными связями и в присутствии ГК способен активировать киназу, что, по некоторым данным, может вести к усилению пролиферации клеток опухоли [121]. Связывание ГК и рецептора CD44 активирует взаимодействие цитоплазматического домена CD44 и тирозинкиназы c-Src, что приводит к фосфорилированию кортактина – цитоскелетного белка, взаимодействующего с актином, что и обеспечивает гиалуронат-зависимую миграцию клеток. В контексте развития опухоли данный процесс обеспечивает инвазию злокачественно трансформированных клеток в окружающие ткани.

Помимо описанного есть еще механизмы взаимодействия цитоскелета и CD44, например, посредством активации GTPаз RhoA и Rac1. Так, взаимодействие, по крайней мере, некоторых изоформ CD44 с RhoA обнаружено в клетках рака молочной железы [123]. Комплекс CD44 и RhoA активирует Rho-киназу, которая фосфорилирует некоторые клеточные белки, включая сам рецептор CD44, который после этого может связываться с белком анкирином

[118, 123]. Некоторые данные указывают, что взаимодействие анкирина и соответствующего домена CD44 играет роль в процессах малигнизации и гиалуронат-зависимой миграции малигнизированных клеток [122]. Запускаемый у некоторых клеток, экспрессирующих CD44, сигнальный путь Ras1, который, как известно, регулирует сборку актина, связан с клеточной подвижностью, образованием складок и выступов мембраны, трансформацией клеток [124–127]. Таким образом, связывание ГК и рецептора CD44 инициирует ряд сигнальных путей, управляющих цитоскелетом и клеточной подвижностью.

Схожая схема регуляции поведения клетки реализуется путем взаимодействия ГК и рецептора RНАММ. В отличие от рецептора CD44 изоформы RНАММ, образуемые путем альтернативного сплайсинга, располагаются и на поверхности клеток, и в ядре, и даже в митохондриях [128–130]. RНАММ способен взаимодействовать с различными киназами, калмодулином, цитоскелетом [128–131]. Связываясь с ГК, внешние рецепторы RНАММ способствуют активации нескольких сигнальных каскадов. Например, происходит активация следующих протеинкиназ: Src-киназа, Erk-киназа, протеинкиназы С [87, 132, 133]. Некоторые исследования указывают на то, что поверхностный и внутриклеточный RНАММ участвуют в регуляции GTPаз семейства Ras [131, 132], задействованных в процессах онкогенеза. В случае изменения путем мутации у RНАММ сайта связывания с ГК клетка теряет способность трансформироваться, или, как минимум, отсутствовала Ras-опосредованная подвижность трансформированных клеток [134]. Взаимодействие RНАММ с цитоскелетом проявляется в ассоциации с актином, а также с кортактином. На модели фибробластов с онкогенной формой Ras было показано, что поверхностный RНАММ, связанный с ГК, способствует перераспределению фокальной адгезии (перемещению адгезивной пластинки) и формированию ламеллоподии при наличии фибронектина [135], то есть взаимодействие рецептора и ГК обуславливает клеточную подвижность малигнизированных клеток.

Функции описанных рецепторов (CD44, RНАММ) и других гиаладгеринов могут частично перекрываться. Однако существуют и специфические функции для каждого рецептора. Например, для CD44 характерно участие в адгезии к гликозаминогликановому матриксу клеток эндотелия и тимоцитов [136], а также регуляции клеточной пролиферации [137, 138]. RНАММ необходим для миграции клеток [136, 138], также рецептор активирует про-

теинтирозинкиназный каскад в клетках эндотелия [87].

ГК, ГИАЛУРОНИДАЗЫ И ПРОЦЕССЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Давно обнаружено, что высокие концентрации ГК и/или гиалуронидазная активность в ткани сопровождают процессы малигнизации и канцерогенеза. Гистологические образцы эпителиальных опухолей, окрашенные соответствующим образом, демонстрируют, что, по-видимому, все они содержат повышенное по сравнению с нормальным количество ГК в межклеточном матриксе [139]. Часто высокое содержание ГК в строме опухоли и околоопухолевом пространстве свидетельствует о неблагоприятном прогнозе течения таких опухолевых заболеваний, как рак молочной железы и яичников [140, 141].

Согласно современным моделям онкогенеза рак часто описывается как неконтролируемая пролиферация и инвазия генетически измененных, малигнизированных клеточных линий. По сути это эволюционный процесс возникновения в соматических клетках мутаций и отбора клеток (клонов), наиболее приспособленных к бесконтрольному размножению и существованию в условиях многоклеточного организма и его иммунной системы. Однако прогрессирующая опухоль есть нечто большее, чем простая совокупность клонов мутантных клеток – это сложное трехмерное гетерогенное образование со сложными механизмами межклеточного взаимодействия, как между клетками опухоли, так и между малигнизированными и нормальными клетками и микросредой. Свойства межклеточного матрикса играют в этих процессах одну из ключевых ролей. Более того, для процессов инвазии и метастазирования опухоль должна разрушать матрикс, что, как правило, сопровождается изменениями в межклеточной сигнализации, появлением факторов роста, процессами ангиогенеза и т.д. И ГК служит, с одной стороны, основой матрикса опухоли, с другой стороны, гликозаминогликан и продукты его деградации гиалуронидазами служат сигналами, в том числе для ангиогенеза и снабжения опухоли питательными веществами. Как минимум три свойства ГК значимы для процессов канцерогенеза: реологические свойства растворов ГК, способность связываться с гиаладгерином и сигнальные свойства ГК и продуктов ее распада.

В последнее время появилось много данных, указывающих на прямое участие (влияние) ГК в развитии некоторых типов опухолей [95–97, 142–148]. Предполагают, что в опухолях, основ-

ным компонентом матрикса которых является ГК, гликозаминогликан поддерживает пролиферацию клеток и отвечает за процессы инвазии и метастазирование, поскольку опухоль содержит повышенное количество специфических гиалуронат-связывающих белков [149]. Например, стимулирование синтеза ГК необходимо для миграции трансформированных кератиноцитов, что указывает на роль ГК в проникновении и распространении раковых клеток в эпителиальной ткани [150].

Некоторые опухоли воздействуют на окружающие клетки таким образом, что повышается уровень биосинтеза ГК, тогда как для целого ряда карцином доказано, что высокий уровень ГК в матриксе, окружающем опухоль обусловлен синтезом гликозаминогликана малигнизированными клетками [140, 151, 152]. Более того, большое количество клеток, синтезирующих гиалуронат, делает опухоль более агрессивной.

В поставленных экспериментах для проверки роли ГК в процессах канцерогенеза применялись главным образом два подхода: в тканевой культуре инициировали сверхэкспрессию *has*-генов, что способствовало прогрессии фибросаркомы и карциномы простаты [96, 142], а также метастазированию карциномы молочной железы (изучено на моделях животных) [95], а подавление взаимодействия клеток и ГК приводило к замедлению роста, инвазии и метастазирования некоторых опухолей *in vivo* [97, 143–147]. Для подавления взаимодействия клеток и ГК использовались несколько приемов, наиболее распространенным из которых был метод конкуренции с соответствующими гиаладгеринами (CD44 [143–147], RHAMM [153] или гиаладгеринами хрящевой ткани [97]). Предполагалось, что, повышая уровень растворимых гиаладгеринов, авторы исследований снижали степень взаимодействия соответствующих клеточных рецепторов с ГК и, как следствие, ингибировали предполагаемый сигнальный путь. Например, сверхэкспрессия растворимой формы CD44 клетками карциномы молочной железы или меланомы замедляла рост опухоли и метастазирование, причем сверхэкспрессия мутантной формы CD44 с измененным центром связывания ГК не давала подобного эффекта [143–147]. Механизм подавления роста опухоли на клеточном уровне заключался в торможении G1-фазы клеточного цикла или апоптозе [143, 144] опухолевых клеток и замедлении инвазии [145]. Введение олигосахаридов ГК в опухолевую ткань также ингибировало рост некоторых типов опухолей, включая карциномы молочной железы и легкого, а также меланомы [148]. Предполагаемый механизм в

этом случае — конкуренция олигосахаридов и ГК матрикса за клеточные рецепторы. Олигосахариды при этом чаще формируют моновалентные взаимодействия с рецептором в отличие от высокомолекулярной ГК, что инициирует торможение G1-фазы и/или апоптоз.

Диагностически значимым признаком развития патологических процессов, таких как некоторые формы рака крови, является повышенное содержание ГК и гиалуронидаз в моче пациента [114]. В норме гиалуронидаза присутствует в небольших количествах в сыворотке крови и моче. Повышение активности фермента в тканях и клетках указывает на их малигнизацию и процессы канцерогенеза [116, 154–161], причем агрессивность течения заболевания коррелировала с содержанием гиалуронидазы [114, 159, 160, 162, 163]. Изоформа HYAL-1 первой обнаружена в опухолях и биологических жидкостях у пациентов с раком крови, простаты, некоторыми видами карцином [155–161]. Показано, что именно HYAL-1 играет ведущую роль в механизмах онкогенеза: подавление экспрессии соответствующего гена в случае рака крови и рака простаты уменьшало агрессивность и инвазивность *in vitro*, замедляло рост, инфильтрацию и ангиогенез на лабораторных моделях [164, 165]. Однако и сверхэкспрессия приводила к положительной картине — угнетению роста опухоли и апоптозу. Одним из механизмов регуляции активности HYAL-1 является альтернативный сплайсинг, который приводит к возникновению ряда неактивных вариантов фермента, некоторые из которых могут служить факторами, подавляющими рост опухоли, ее инвазию и ангиогенез [113, 166].

Подводя промежуточный итог, следует отметить, что в научной литературе накопилось большое количество (часто противоречивых!) фактов, подтверждающих важную роль ГК и гиалуронидаз в процессах канцерогенеза. Сложность, многообразие и многостадийность онкологических процессов, множественность регулирующих «поведение» клетки систем и взаимодействующих, пересекающихся каскадных процессов, имеющих место в клетках, не позволяют указать единственную и однозначную роль ГК и гиалуронидаз в канцерогенезе. Тем не менее большинство данных указывает на усиление синтеза ГК малигнизированными клетками: в наиболее агрессивных опухолях наблюдалась повышенная активность HAS1–3. Учитывая размероспецифичность действия ГК, можно предположить, что усиленная экспрессия *has1* и *has2* приводит к повышенному синтезу ГК с мол. массой около 1–2 МДа и более, что способствует усиленной пролиферации, миграции

клеток и метастазированию, а также снижению дифференциации клеток (напрашивается аналогия с процессами эмбриогенеза). Экспрессия *has3* приводит к образованию ГК меньшей молекулярной массы (~100 кДа), что может стимулировать ангиогенез, улучшающий снабжение растущей опухоли питательными веществами. Тот же эффект оказывает повышенная секреция некоторых изоформ гиалуронидаз – в окружающем опухоль пространстве появляются олигосахариды или «низкомолекулярная» ГК, являющиеся антиапоптозными факторами и стимуляторами ангиогенеза. То есть усиление как синтеза, так и деградации ГК по сравнению с нормой в большинстве случаев способствует агрессивному течению онкологического заболевания. Хотя следует отметить, что снижение активности гиалуронидаз в окружающем опухоль пространстве тоже может вести к более активной пролиферации и миграции клеток, а значит и метастазированию, а повышение экспрессии *hyal-1* в некоторых случаях приводило к замедлению роста опухоли.

Противоречивость данных возможно объяснить, если принять во внимание разнообразие биологических функций ГК различной молекулярной массы, а также тот факт, что разные опухолевые клетки могут обладать разными наборами рецепторов, изоформы которых по разному могут взаимодействовать с молекулами ГК разного размера, тем более, что на их аффинность могут влиять «третьи» вещества. Например, хорошо известно, что небольшие молекулы ГК инициируют процессы ангиогенеза, однако в некоторых опухолях ангиогенез стимулировала именно высокомолекулярная ГК, а малые молекулы, наоборот, подавляли процесс [167]. Оказывается, высокомолекулярная ГК в присутствии хемокина CXCL12, связываясь с рецептором CD44, запускала сигнальный путь рецептора CXCR4, что приводило к разрастанию кровеносных сосудов и увеличению подвижности клеток, т.е. прогрессии опухоли. Низкомолекулярная ГК напротив дестабилизировала мультирецепторный комплекс CD44–CXCL12–CXCR4, подавляя ангиогенез [167].

ПРИЧИНА РАКОВОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ГОЛОГО ЗЕМЛЕКОПА

Отдельного упоминания заслуживает опубликованная недавно работа, выполненная коллективом лаборатории под руководством Горбуновой и Силуанова (Рочестерский университет) [168]. Авторы изучали феномен необычайно вы-

сокой (по сравнению с остальными грызунами) продолжительности жизни голых землекопов (*Heterocephalus glaber*) и причин отсутствия заболеваемости раком. Многолетние наблюдения за несколькими большими колониями голых землекопов не выявили ни одного случая онкологических заболеваний у их обитателей [169, 170]. При исследовании культур клеток голого землекопа был обнаружен уникальный неизвестный ранее противораковый механизм, отсутствующий у мышей, крыс, др. грызунов и, скорее всего, человека и названный авторами ранним контактным торможением [171]. Данное свойство клеток и тканей голого землекопа останавливает размножение клеток в культуре при гораздо меньшей их плотности, чем та, которая достигается в культуре, например, мышинных клеток. Вообще феномен контактного торможения играет существенную роль в ограничении пролиферации нормальных клеток при их прямом взаимодействии друг с другом или при взаимодействии через матрикс. Малигнизированные/трансформированные клетки утрачивают это свойство и характеризуются способностью к неограниченной пролиферации. Раннее контактное торможение не позволяет клеткам голого землекопа трансформироваться и формировать опухоль, что является, по всей видимости, мощной защитой от заболеваний раком. Механизм раннего контактного торможения заключался в индукции p16^{INK4a} (известного белка-супрессора опухолей) и остановке клеточного цикла в G1-фазе [168]. Потеря способности к раннему контактному торможению повышала вероятность малигнизации клеток голого землекопа [171].

Авторами работы [168] было обнаружено, что фибробласты голого землекопа способны продуцировать большие количества ГК **необычно** высокой мол. массы – 6–12 МДа, тогда как мол. масса ГК у остальных млекопитающих составляет, как правило, 0,5–3 МДа. Большое содержание ГК столь высокой молекулярной массы объяснялось повышенной активностью HAS2 (сверхэкспрессией в фибробластах взрослого организма, но не фибробластах эмбриона) [168]. Кроме того, первичная структура HAS2 голого землекопа характеризовалась заменой двух остатков аспарагина (у всех исследованных гиалуронатсинтаз млекопитающих) на серин в высококонсервативной области, принадлежащей цитоплазматической части активного центра фермента [168]. Данная замена, как полагают авторы исследования, обеспечивает большую процессивность HAS2 голого землекопа. Второй фактор, обеспечивающий необычно большую молекулярную массу ГК – низкая активность внеклеточных гиалуронидаз в тканях голого

землекопа [168]. Высокомолекулярная ГК характерна как для культур тканей *in vitro*, так и для тканей любой особи голого землекопа.

То, что за феномен раннего контактного торможения у голого землекопа отвечает высокомолекулярная ГК, доказывает эксперимент с обработкой культуры фибробластов бактериальными гиалуронатлиазами. Клетки в отсутствие высокомолекулярной ГК теряли способность к раннему контактному торможению [168]. Важную роль в развитии раннего контактного торможения у голого землекопа играют рецепторы CD44, что было установлено в опыте с их блокированием [168]. Как оказалось, чувствительность CD44 к ГК в два раза выше, чем у рецепторов человека или мыши. Связывание CD44 с высокомолекулярной ГК инициировало NF2-сигнальный путь, связанный с фосфорилированием/дефосфорилированием белка NF2. Присутствие в среде высокомолекулярной ГК (без обработки гиалуронидазами) и в случае незаблокированных рецепторов CD44 наблюдалось преобладание в клетках культуры нефосфорилированной формы NF2, являющейся ингибитором роста, и индукция p16^{INK4a} [168]. Такие клетки обладали фенотипом с выраженным ранним контактным торможением и не были способны к трансформации и малигнизации при воздействии онковирусов H-Ras V12 и SV40 LT, трансформирующих в сходных условиях фибробласты мышей [168]. Устранение либо высокомолекулярной ГК, либо блокирование рецепторов CD44 давало возможность злокачественной трансформации клеток голого землекопа как *in vitro*, так и *in vivo* [168].

Результаты исследования служат доказательством того, что необычно высокая молекулярная масса ГК, ее взаимодействие с рецептором CD44 и более низкая активность гиалуронидазы обеспечивают устойчивость голого землекопа к опухолевым заболеваниям. Использование высокомолекулярной ГК, целенаправленное ингибирование HYAL-2 или воздействие на сигнальный путь ГК—CD44—NF2 открывают пути для предупреждения раковых заболеваний и повышения продолжительности жизни.

ПРОТЕКТОРНАЯ РОЛЬ ГК И ГИАЛУРОНИДАЗЫ

Известны и хорошо изучены биохимические, биофизические и биологические свойства ГК, и тем не менее удивляет свойство некоторых бактерий и многоклеточных животных синтезировать молекулу ГК. Невольно напрашивается вопрос: какие причины заставляют безъядерные

и ядерные клетки столь далеких царств синтезировать один и тот же уникальный полисахарид? На наш взгляд, условно можно выделить три группы таких причин, связанных с функциями ГК: неспецифические, специфические и протекторные. Неспецифические функции ГК связаны со свойствами межклеточного матрикса (у животных) и гиалуроновой капсулы (у бактерий), которые обеспечивают оптимальное микроокружение для нормального функционирования клеток. Специфические функции связаны с действием ГК на клетки и проявляются через взаимодействие со специфическими рецепторами и запуск различных сигнальных путей. Протекторная функция ГК проявляется во время физического воздействия фактора клеточного стресса, например, при стрессе в форме углеводно-голодного шока (УГШ) [172], т.е. в период критического дефицита глюкозы в питательной среде и, как следствие этого дефицита, низкого уровня АТФ в клетке.

Исследуя вопросы синтеза и деградации ГК у *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, авторы работы [173] столкнулись с малоисследованной проблемой. В процессе периодического культивирования в экспоненциальной фазе роста культуры происходит плавное увеличение концентрации ГК в культуральной жидкости, связанное с биосинтезом капсульного полисахарида бактериями. Однако в предстационарной фазе роста концентрация ГК снижается. При дальнейшем изучении данного эффекта по косвенным признакам (исчезновение капсул вокруг клеток бактерий, снижение мол. массы ГК и др.) и проверке культуральной суспензии на общую гиалуронидазную активность было выявлено, что бактериальные клетки начинают синтезировать гиалуронатлиазы, разрушающие ГК. При культивировании *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* и других близких видов с большой долей вероятности можно сказать, что явление индукции гиалуронатлиазы не является следствием проявления «чувства кворума» («quorum sensing») бактерий или фактором вирулентности, индуцируемым *in vitro* на синтетической питательной среде, а объясняется исчерпанием углеводного субстрата в предстационарной фазе роста и возникновением фактора клеточного стресса — УГШ. Чтобы не произошло нарушения гомеостаза, бактериальные клетки «экстраполируют» свои действия по включению нового дополнительного источника углеводов из своего депо — капсульной ГК. Но размеры молекул ГК на несколько порядков больше размеров пор активной транспортной системы клетки. Поэтому, чтобы обеспечить доступность углеводов ГК, УГШ «включает» (активирует) как бы «молча-

щую» до стрессового воздействия специфическую (к данному стрессу) замкнутую самоорганизующуюся систему управления клеткой, целью управления которой является уменьшение последствий воздействия стресса [172]. В контуре управления такой системы «встроен» жизненно важный гиалуронатлиазный оперон *hyla precursor* [174]. Сигнал инициации транскрипции индуцибельного гена этого оперона формируется в фосфотрансферазной системе (ФТС), в том случае, если клетка начинает испытывать воздействие УГШ при существенном уменьшении образования молекул фосфолированной глюкозы. ФТС в данном случае исполняет функцию «детектора» в контуре управления чувствительного к УГШ. И как следствие этого, в цитоплазме повышается концентрация циклического аденозинмонофосфата сАМР, увеличивая тем самым вероятность образования комплекса сАМР-САР для присоединения его к специфическому участку на ДНК – регуляторной части гена *hyla precursor*. Бактериальная клетка начинает синтезировать гиалуронатлиазу. Данный фермент служит главной цели управления самоорганизующейся системы – разрушению высокомолекулярной ГК на низкомолекулярные фрагменты и дисахариды, что позволяет осуществлять их активный транспорт и сбраживание клеткой ставших доступными углеводов. Этот процесс позволяет поддерживать нормальный уровень АТФ и гомеостаз клетки до исчерпания ГК в культуральной жидкости и капсулах бактериального штамма. Наличие такого протекторного механизма в клетке позволяет ей продлить время нормальной жизнедеятельности бактериальной культуры.

На основании результатов исследований с данным штаммом, в работах [172] и [173] представлены доказательства проявления физического воздействия на клетку фактора клеточного стресса в форме УГШ. Вполне вероятно, что для защиты от подобных стрессов некоторые бакте-

риальные клетки эволюционно выработали специфическую (к стрессу) замкнутую самоорганизующуюся систему управления, целью управления которой является уменьшение последствий воздействия стресса на объект управления клетку. В частности, в данной культуре – последствий УГШ. И эта задача клетками бактерий эффективно решается благодаря заложенному в ее контур управления молекулярно-генетическому защитному механизму преодоления УГШ, ключевую роль в котором играет ГК и бактериальная гиалуронидаза. Общая концепция работы такой системы состоит в следующем [172]: 1) система управления «включается» на специфическое внешнее воздействие, вызвавшее клеточный стресс (УГШ и др.); 2) система детектирует и преобразует специфический сигнал стресса в сигнал инициации для промотора гена *hyla precursor*, соответствующего данному клеточному стрессу; 3) система обеспечивает синтез белка клеточного стресса; 4) роль этого белка – восстановить «статус-кво» клетки; 5) если нормальная жизнедеятельность клетки восстановлена, синтез белка стресса прекращается, замкнутая система управления «выключается» до следующего проявления возникающего клеточного стресса.

Можно предположить, что при некоторых патологиях развитие УГШ может вызывать сходные процессы и в клетках эукариотических организмов, например, в авангардных опухолевых клетках [175], в клетках стареющих тканей [176], или при воздействии флогогенных агентов в острой или хронической фазах воспаления, т.е. в тех случаях, когда клетки могут испытывать дефицит глюкозы. Косвенно о схожих процессах при развитии УГШ у клеток млекопитающих свидетельствует и то обстоятельство, что в межклеточном пространстве наблюдаются повышенные концентрации низкомолекулярных фрагментов ГК, продуктов ее расщепления и высокая активность секретируемых индуцибельных гиалуронидаз.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Meyer, K., and Palmer, J. (1934) The polysaccharide of the vitreous humor, *J. Biol. Chem.*, **107**, 629–634.
2. Linker, A., and Meyer, K. (1954) Production of unsaturated uronides by bacterial hyaluronidases, *Nature*, **174**, 1192–1194.
3. Радаева И.Ф., Костина Г.А., Змиевский А.В. (1997) Гиалуроновая кислота: биологическая роль, строение, синтез, выделение, очистка и применение, *Прикл. биохим. микробиол.*, **33**, 133–137.
4. Armstrong, D.C., and Johns, M.R. (1995) Improved molecular weight analysis of streptococcal hyaluronic acid by size exclusion chromatography, *Biotechnol. Techniq.*, **9**, 491–496.
5. Armstrong, D.C., and Johns, M.R. (1997) Effect of culture conditions on molecular weight of hyaluronic acid produced by *Streptococcus zooepidemicus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 2759–2764.
6. Scott, J.E., Cummings, C., Brass, A., and Chen, Y. (1991) Secondary and tertiary structures of hyaluronan in aqueous solution, investigated by rotary shadowing-electron microscopy and computer simulation. Hyaluronan is a very efficient network-forming polymer, *Biochem. J.*, **274**, 699–705.

7. Atkins, E.D., Phelps, C.F., and Sheehan, J.K. (1972) The conformation of the mucopolysaccharides. Hyaluronates, *Biochem. J.*, **128**, 1255–1263.
8. Sheehan, J.K., Arundel, C., and Phelps, C.F. (1983) Effects of the cations sodium, potassium and calcium on the interaction of hyaluronate chains – a light-scattering and viscosimetric study, *Int. J. Biol. Macromol.*, **5**, 222–228.
9. Sheehan, J.K., Gardner, K.H., and Atkins, E.D. (1977) Hyaluronic acid: a double helix structure in the presence of potassium at low pH and found also with the cations ammonium, rubidium and calcium, *J. Mol. Biol.*, **117**, 113–135.
10. Atkins, E.D., and Sheehan, J.K. (1973) Hyaluronates: relation between molecular conformations, *Science*, **179**, 562–564.
11. Dea, I.C., and Moorhouse, M.R. (1973) Hyaluronic acid: a novel, double helical molecule, *Science*, **179**, 560–562.
12. Guss, J.M., Hukins, D.W., Smith, P.J., Winter, W.T., and Arnott, S. (1975) Hyaluronic acid: molecular conformations and interactions in two sodium salts, *J. Mol. Biol.*, **95**, 359–384.
13. Winter, W.T., and Arnott, S. (1977) Hyaluronic acid: the role of divalent cations in conformation and packing, *J. Mol. Biol.*, **117**, 761–784.
14. Cleland, R.L., and Wang, J.L. (1970) Ionic polysaccharides. III. Dilute solution properties of hyaluronic acid fractions, *Biopolymers*, **9**, 799–810.
15. Cleland, R.L. (1977) The persistence length of hyaluronic acid: an estimate from small-angle x-ray scattering and intrinsic viscosity, *Arch. Biochem. Biophys.*, **180**, 57–68.
16. Cleland, R.L. (1968) Ionic polysaccharides. II. Comparison of polyelectrolyte behavior of hyaluronate with that of carboxymethyl cellulose, *Biopolymers*, **6**, 1519–1529.
17. Darke, A., Finer, E.G., Moorhouse, R., and Rees, D.A. (1975) Studies of hyaluronate solutions by nuclear magnetic relaxation measurements. Detection of covalently-defined, stiff segments within the flexible chains, *J. Mol. Biol.*, **99**, 477–486.
18. Ribitsch, G., Schurz, J., and Ribitsch, V. (1980) Investigation of the solution structure of hyaluronic acid by light-scattering, SAXS and viscosity measurements, *Colloid Polymer Sci.*, **258**, 1322–1334.
19. Cowman, M.K., Spagnoli, C., Kudasheva, D., Li, M., Dyal, A., Kanai, S., and Balazs, E.A. (2005) Extended, relaxed, and condensed conformations of hyaluronan, *Biophys. J.*, **88**, 590–602.
20. Kogan, G., Soltes, L., Stern, R., and Gemeiner, P. (2007) Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications, *Biotechnol. Lett.*, **29**, 17–25.
21. Asari, A., Miyauchi, S., Kuriyama, S., Machida, A., Kohno, K., and Uchiyama, Y. (1994) Localization of hyaluronic acid in human articular cartilage, *J. Histochem. Cytochem.*, **42**, 513–522.
22. Cleland, R.L., and Sherblom, A.P. (1977) Isolation and physical characterization of hyaluronic acid prepared from bovine nasal septum by cetylpyridinium chloride precipitation, *J. Biol. Chem.*, **252**, 420–426.
23. Levy, P., Picard, J., and Bruel, A. (1981) Glycosaminoglycan biosynthesis in arterial wall sulfation of heparan sulfate in cell membrane of aortic media-intima, *Eur. J. Biochem.*, **115**, 397–404.
24. Nardinia, M., Oria, M., Vigettid, D., Gornatid, R., Nardia, I., and Perris, R. (2004) Regulated gene expression of hyaluronan synthases during *Xenopus laevis* development, *Gene Expr. Patterns*, **4**, 303–308.
25. Schmidt, A., Prager, M., Selmke, P., and Buddecke, E. (1982) Isolation and properties of proteoglycans from bovine aorta, *Eur. J. Biochem.*, **125**, 95–101.
26. Itano, N., and Kimata, K. (1996) Expression cloning and molecular characterization of HAS protein, a eukaryotic hyaluronan synthase, *J. Biol. Chem.*, **271**, 9875–9878.
27. Shyjan, A.M., Heldin, P., Butcher, E.C., Yoshino, T., and Briskin, M.J. (1996) Functional cloning of the cDNA for a human hyaluronan synthase, *J. Biol. Chem.*, **271**, 23395–23399.
28. Spicer, A.P., Augustine, M.L., and McDonald, J.A. (1996) Molecular cloning and characterization of a putative mouse hyaluronan synthase, *J. Biol. Chem.*, **271**, 23400–23406.
29. Watanabe, K., and Yamaguchi, Y. (1996) Molecular identification of a putative human hyaluronan synthase, *J. Biol. Chem.*, **271**, 22945–22948.
30. Giji, S., and Arumugam, M. (2014) Isolation and characterization of hyaluronic acid from marine organisms, *Adv. Food Nutr. Res.*, **72**, 61–77.
31. Volpi, N., and Maccari, F. (2003) Purification and characterization of hyaluronic acid from the mollusc bivalve *Mytilus galloprovincialis*, *Biochimie*, **85**, 619–625.
32. DeAngelis, P.L., Jing, W., Graves, M.V., Burbank, D.E., and van Etten, J.L. (1997) Hyaluronan synthase of chlorella virus PBCV-1, *Science*, **278**, 1800–1803.
33. Graves, M.V., Burbank, D.E., Roth, R., Heuser, J., DeAngelis, P.L., and van Etten, J.L. (1999) Hyaluronan synthesis in virus PBCV-1-infected chlorella-like green algae, *Virology*, **257**, 15–23.
34. Kendall, F.E., Heidelberger, M., and Dawson, M.H. (1937) A serologically inactive polysaccharide elaborated by mucoid strains of group A hemolytic *Streptococcus*, *J. Biol. Chem.*, **118**, 61–69.
35. Seastone, C.V. (1939) The virulence of group C hemolytic streptococci of animal origin, *J. Exp. Med.*, **70**, 361–378.
36. Topper, Y.J., and Lipton, M.M. (1953) The biosynthesis of a streptococcal capsular polysaccharide, *J. Biol. Chem.*, **203**, 135–142.
37. Stoolmiller, A.C., and Dorfman, A. (1969) The biosynthesis of hyaluronic acid by *Streptococcus*, *J. Biol. Chem.*, **244**, 236–246.
38. Kass, E.H., and Seastone, C.V. (1944) The role of the mucoid polysaccharide (hyaluronic acid) in the virulence of group A *Streptococci*, *J. Exp. Med.*, **79**, 319–330.
39. Carter, G.R., and Annau, E. (1953) Isolation of capsular polysaccharides from colonial variants of *Pasteurella multocida*, *Am. J. Vet. Res.*, **14**, 475–478.
40. DeAngelis, P.L., Jing, W., Drake, R.R., and Achyuthan, A.M. (1998) Identification and molecular cloning of a unique hyaluronan synthase from *Pasteurella multocida*, *J. Biol. Chem.*, **273**, 8454–8458.
41. Evanko, S.P., and Wight, T.N. (1999) Intracellular localization of hyaluronan in proliferating cells, *J. Histochem. Cytochem.*, **47**, 1331–1342.
42. Huang, L., Grammatikakis, N., Yoneda, M., Banerjee, S.D., and Toole, B.P. (2000) Molecular characterization of a novel intracellular hyaluronan-binding protein, *J. Biol. Chem.*, **275**, 29829–29839.
43. Kreil, G. (1995) Hyaluronidases – a group of neglected enzymes, *Protein Sci.*, **4**, 1666–1669.
44. Toole, B.P. (1991) Proteoglycans and hyaluronan in morphogenesis and differentiation, in *Cell Biology of Extracellular Matrix* (Hay, E.D., ed.), Plenum Press, N.Y., pp. 305–341.
45. Toole, B.P. (1997) Hyaluronan in morphogenesis, *J. Intern. Med.*, **242**, 35–40.
46. Camenisch, T.D., Spicer, A.P., Brehm-Gibson, T., Biesterfeldt, J., Augustine, M.L., Calabro, A., Jr., Kubalak, S., Klexer, S.E., and McDonald, J.A. (2000) Disruption of

- hyaluronan synthase-2 abrogates normal cardiac morphogenesis and hyaluronan-mediated transformation of epithelium to mesenchyme, *J. Clin. Invest.*, **106**, 349–360.
47. Juhlin, L. (1997) Hyaluronan in skin, *J. Intern. Med.*, **242**, 61–66.
 48. Prehm, P. (2000) Hyaluronan, in *Biopolymers: biology, chemistry, biotechnology, applications, 5 Polysaccharides I. Polysaccharides from prokaryotes*, (Vandamme, E.J., DeBaets, S., and Steinbuchel, A.-W., eds), Wiley-VCH, N.Y., pp. 379–404.
 49. Schiller, J., Fuchs, B., Arnhold, J., and Arnold, K. (2003) Contribution of reactive oxygen species to cartilage degradation in rheumatic diseases: molecular pathways, diagnosis and potential therapeutic strategies, *Curr. Med. Chem.*, **10**, 2123–2145.
 50. Soltés, L., Mendichi, R., Kogan, G., Schiller, J., Stankovska, M., and Arnhold, J. (2006) Degradative action of reactive oxygen species on hyaluronan, *Biomacromolecules*, **7**, 659–668.
 51. Tammi, M.I., Day, A.J., and Turley, E.A. (2002) Hyaluronan and homeostasis: a balancing act, *J. Biol. Chem.*, **277**, 4581–4584.
 52. Kogan, G., Soltés, L., Stern, R., Schiller, J., and Mendichi, R. (2008) Hyaluronic acid: its function and degradation in *in vivo* systems, in *Studies in natural products chemistry* (Atta-ur-Rahman, ed.), **35**, Elsevier, Amsterdam, pp. 131–143.
 53. Noble, P.W., Lake, F.R., Henson, P.M., and Riches, D.W. (1993) Hyaluronate activation of CD-44 induces insulin-like growth factor-1 expression by a tumor necrosis factor- α 1-dependent mechanism in murine macrophages, *J. Clin. Invest.*, **91**, 2368–2377.
 54. Hodge-Dufour, J., Horton, M.R., Burdick, M.D., Strieter, R.M., Noble, P.W., Hunter, C., Trinchieri, G., and Pure, E. (1997) Induction of IL-12 and chemokines by hyaluronan requires adhesion-dependent priming of resident but not elicited macrophages, *J. Immunol.*, **159**, 2492–2500.
 55. Horton, M.R., Shapiro, S., Lowenstein, C.J., and Noble, P.W. (1999) Induction and regulation of macrophage metalloelastase by hyaluronan fragments in mouse macrophages, *J. Immunol.*, **162**, 4171–4176.
 56. West, D.C., and Kumar, S. (1989) The effect of hyaluronate and its oligosaccharides on endothelial cell proliferation and monolayer integrity, *Exp. Cell Res.*, **183**, 179–196.
 57. Rooney, P., Kumar, S., Ponting, J., and Wang, M. (1995) The role of hyaluronan in tumour neovascularization, *Int. J. Cancer*, **60**, 632–636.
 58. Ohkawara, Y., Tamura, G., Iwasaki, T., Tanaka, A., Kikuchi, T., and Shirato, K. (2000) Activation and transforming growth factor-beta production in eosinophils by hyaluronan, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **23**, 444–451.
 59. West, D.C., Hampson, I.N., Arnold, F., and Kumar, S. (1985) Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid, *Science*, **228**, 1324–1326.
 60. Feinberg, R.N., and Beebe, D.C. (1983) Hyaluronate in vasculogenesis, *Science*, **220**, 1177–1179.
 61. Termeer, C.C., Hennies, J., Voith, U., Ahrens, T., Weiss, J.M., Prehm, P., and Simon, J.C. (2000) Oligosaccharides of hyaluronan are potent activators of dendritic cells, *J. Immunol.*, **165**, 1863–1870.
 62. Xu, H., Ito, T., Tawada, A., Maeda, H., Yamanokuchi, H., Isahara, K., Yoshida, K., Uchiyama, Y., and Asari, A. (2002) Effect of hyaluronan oligosaccharides on the expression of heat shock protein 72, *J. Biol. Chem.*, **277**, 17308–17314.
 63. Stern, R., Asari, A.A., and Sugahara, K.N. (2006) Hyaluronan fragments: an information-rich system, *Eur. J. Cell Biol.*, **85**, 699–715.
 64. Heldermon, C., DeAngelis, P.L., and Weigel, P.H. (2001) Topological organization of the hyaluronan synthase from *Streptococcus pyogenes*, *J. Biol. Chem.*, **276**, 2037–2046.
 65. Philipson, L.H., and Schwartz, N.B. (1984) Subcellular localization of hyaluronate synthetase in oligodendrogloma cells, *J. Biol. Chem.*, **259**, 5017–5023.
 66. Appel, A., Horwitz, A.L., and Dorfman, A. (1979) Cell-free synthesis of hyaluronic acid in Marfan syndrome, *J. Biol. Chem.*, **254**, 12199–12203.
 67. Philipson, L.H., Westley, J., and Schwartz, N.B. (1985) Effect of hyaluronidase treatment of intact cells on hyaluronate synthetase activity, *Biochemistry*, **24**, 899–906.
 68. Prehm, P. (1983) Synthesis of hyaluronate in differentiated teratocarcinoma cells: characterization of the synthase, *Biochem. J.*, **211**, 181–189.
 69. Weigel, P.H., Hascall, V.C., and Tammi, M. (1997) Hyaluronan synthases, *J. Biol. Chem.*, **272**, 13997–14000.
 70. Kumari, K., and Weigel, P.H. (1997) Molecular cloning, expression, and characterization of the authentic hyaluronan synthase from group C *Streptococcus equisimilis*, *J. Biol. Chem.*, **272**, 32539–32546.
 71. DeAngelis, P.L., Papaconstantinou, J., and Weigel, P.H. (1993) Molecular cloning, identification and sequence of the hyaluronic acid synthase gene from group A *Streptococcus pyogenes*, *J. Biol. Chem.*, **268**, 19181–19184.
 72. DeAngelis, P.L., and Weigel, P.H. (1994) Immunochemical confirmation of the primary structure of streptococcal hyaluronan synthase and synthesis of high molecular weight product by the recombinant enzyme, *Biochem. J.*, **33**, 9033–9039.
 73. Prehm, P. (1983) Synthesis of hyaluronate in differentiated teratocarcinoma cells. Mechanism of chain growth, *Biochem. J.*, **211**, 191–198.
 74. Asplund, T., Brinck, J., Suzuki, M., Briskin, M.J., and Helledin, P. (1998) Characterization of hyaluronan synthase from a human glioma cell line, *Biochim. Biophys. Acta*, **1380**, 377–388.
 75. Jing, W., and DeAngelis, P.L. (2003) Analysis of the two active sites of the hyaluronan synthase and the chondroitin synthase of *Pasteurella multocida*, *Glycobiology*, **13**, 661–671.
 76. DeAngelis, P.L. (2002) Evolution of glycosaminoglycans and their glycosyltransferases: implications for the extracellular matrices of animals and the capsules of pathogenic bacteria, *Anat. Rec.*, **268**, 317–326.
 77. Toyoda, H., Kinoshita-Toyoda, A., and Selleck, S.B. (2000) Structural analysis of glycosaminoglycans in *Drosophila* and *Caenorhabditis elegans* and demonstration that tout-velu, a *Drosophila* gene related to EXT tumor suppressors, affects heparan sulfate *in vivo*, *J. Biol. Chem.*, **275**, 2269–2275.
 78. Spicer, A.P., and McDonald, J.A. (1998) Characterization and molecular evolution of a vertebrate hyaluronan synthase gene family, *J. Biol. Chem.*, **273**, 1923–1932.
 79. Itano, N., and Kimata, K. (1996) Molecular cloning of human hyaluronan synthase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **222**, 816–820.
 80. Martin, J., Han, C., Gordon, L.A., Terry, A., Prabhakar, S., She, X., Xie, G., Hellsten, U., Chan, Y.M., Altherr, M., Couronne, O., Aerts, A., Bajorek, E., Black, S., Blumer, H., Branscomb, E., Brown, N.C., Bruno, W.J., Buckingham, J.M., Callen, D.F., Campbell, C.S., Campbell, M.L., Campbell, E.W., Caoile, C., Challacombe, J.F., Chasteen, L.A., Chertkov, O., Chi, H.C., Christensen, M., Clark, L.M., Cohn, J.D., Denys, M., Detter, J.C., Dickson, M., Dimitrijevic-Bussod, M., Escobar, J., Fawcett, J.J., Flowers, D., Fotopulos, D., Glavina, T., Gomez, M., Gonzales, E., Goodstein, D., Goodwin, L.A., Grady, D.L., Grigoriev, I., Groza, M.,

- Hammon, N., Hawkins, T., Haydu, L., Hildebrand, C.E., Huang, W., Israni, S., Jett, J., Jewett, P.B., Kadner, K., Kimball, H., Kobayashi, A., Krawczyk, M.C., Leyba, T., Longmire, J.L., Lopez, F., Lou, Y., Lowry, S., Ludeman, T., Manohar, C.F., Mark, G.A., McMurray, K.L., Meincke, L.J., Morgan, J., Moyzis, R.K., Mundt, M.O., Munk, A.C., Nandkeshwar, R.D., Pitluck, S., Pollard, M., Predki, P., Parson-Quintana, B., Ramirez, L., Rash, S., Retterer, J., Ricke, D.O., Robinson, D.L., Rodriguez, A., Salamov, A., Saunders, E.H., Scott, D., Shough, T., Stallings, R.L., Stalvey, M., Sutherland, R.D., Tapia, R., Tesmer, J.G., Thayer, N., Thompson, L.S., Tice, H., Torney, D.C., Tran-Gyamfi, M., Tsai, M., Ulanovsky, L.E., Ustaszewska, A., Vo, N., White, P.S., Williams, A.L., Wills, P.L., Wu, J.R., Wu, K., Yang, J., Dejong, P., Bruce, D., Doggett, N.A., Deaven, L., Schmutz, J., Grimwood, J., Richardson, P., Rokhsar, D.S., Eichler, E.E., Gilna, P., Lucas, S.M., Myers, R.M., Rubin, E.M., and Pennacchio, L.A. (2004) The sequence and analysis of duplication-rich human chromosome 16, *Nature*, **432**, 988–994.
81. Toole, B.P. (2000) Hyaluronan is not just a goo! *J. Clin. Invest.*, **106**, 335–336.
 82. Lee, J.Y., and Spicer, A.P. (2000) Hyaluronan: a multi-functional, megaDalton, stealth molecule, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **12**, 581–586.
 83. Sattar, A., Rooney, P., Kumar, S., Pye, D., West, D.C., Scott, I., and Ledger, P. (1994) Application of angiogenic oligosaccharides of hyaluronan increase blood vessel numbers in skin, *J. Invest. Dermatol.*, **103**, 573–579.
 84. Lees, V.C., Fan, T.P., and West, D.C. (1995) Angiogenesis in a delayed tevascularization model is accelerated by angiogenic oligosaccharides of hyaluronan, *Lab. Invest.*, **73**, 259–266.
 85. Deed, R., Rooney, P., Kumar, P., Norton, J.D., Smith, J., Freemont, A.J., and Kumar, S. (1997) Early-response gene signalling is induced by angiogenic oligosaccharides of hyaluronan in endothelial cells, *Int. J. Cancer*, **71**, 251–256.
 86. Slevin, M., Krupinski, J., Kumar, S., and Gaffney, J. (1998) Angiogenic oligosaccharides of hyaluronan induce protein tyrosine kinase activity in endothelial cells and activate a cytoplasmic signal transduction pathway resulting in proliferation, *Lab. Invest.*, **78**, 987–1003.
 87. Lokeshwar, V.B., and Selzer, M.G. (2000) Differences in hyaluronic acid-mediated functions and signaling in arterial, microvessel, and vein-derived human endothelial cells, *J. Biol. Chem.*, **275**, 27641–27649.
 88. Slevin, M., Kumar, S., and Gaffney, J. (2002) Angiogenic oligosaccharides of hyaluronan induce multiple signaling pathways affecting vascular endothelial cell mitogenic and wound healing responses, *J. Biol. Chem.*, **277**, 41046–41059.
 89. Suzuki, M., Kobayashi, H., Kanayama, N., Nishida, T., Takigawa, M., and Terao, T. (2002) CD44 stimulation by fragmented hyaluronic acid induces upregulation and tyrosine phosphorylation of c-Met receptor protein in human chondrosarcoma cells, *Biochim. Biophys. Acta*, **1591**, 37–44.
 90. Kobayashi, H., Suzuki, M., Kanayama, N., Nishida, T., Takigawa, M., and Terao, T. (2002) CD44 stimulation by fragmented hyaluronic acid induces upregulation of urokinase-type plasminogen activator and its receptor and subsequently facilitates invasion of human chondrosarcoma cells, *Int. J. Cancer*, **102**, 379–389.
 91. Nasreen, N., Mohammed, K.A., Hardwick, J., Van Horn, R.D., Sanders, K., Kathuria, H., Loghmani, F., and Antony, V.B. (2002) Low molecular weight hyaluronan induces malignant mesothelioma cell (MMC) proliferation and haptotaxis: role of CD44 receptor in MMC proliferation and haptotaxis, *Oncol. Res.*, **13**, 71–78.
 92. Fujita, Y., Kitagawa, M., Nakamura, S., Azuma, K., Ishii, G., Higashi, M., Kishi, H., Hiwasa, T., Koda, K., Nakajima, N., and Harigaya, K. (2002) CD44 signaling through focal adhesion kinase and its anti-apoptotic effect, *FEBS Lett.*, **528**, 101–108.
 93. Zimmerman, E., Geiger, B., and Addadi, L. (2002) Initial stages of cell-matrix adhesion can be mediated and modulated by cell-surface hyaluronan, *Biophys. J.*, **82**, 1848–1857.
 94. Ichikawa, T., Itano, N., Sawai, T., Kimata, K., Koganehira, Y., Saida, T., and Taniguchi, S. (1999) Increased synthesis of hyaluronate enhances motility of human melanoma cells, *J. Invest. Dermatol.*, **113**, 935–939.
 95. Itano, N., Sawai, T., Miyaishi, O., and Kimata, K. (1999) Relationship between hyaluronan production and metastatic potential of mouse mammary carcinoma cells, *Cancer Res.*, **59**, 2499–2504.
 96. Kosaki, R., Watanabe, K., and Yamaguchi, Y. (1999) Overproduction of hyaluronan by expression of the hyaluronan synthase Has2 enhances anchorage-independent growth and tumorigenicity, *Cancer Res.*, **59**, 1141–1145.
 97. Liu, N., Lapcevic, R.K., Underhill, C.B., Han, Z., Gao, F., Swartz, G., Plum, S.M., Zhang, L., and Gree, S.J. (2001) Metastatin: a hyaluronan-binding complex from cartilage that inhibits tumor growth, *Cancer Res.*, **61**, 1022–1028.
 98. Itano, N., Atsumi, F., Sawai, T., Yamada, Y., Miyaishi, O., Senga, T., Hamaguchi, M., and Kimata, K. (2002) Abnormal accumulation of hyaluronan matrix diminishes contact inhibition of cell growth and promotes cell migration, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 3609–3614.
 99. Itano, N., Sawai, T., Yoshida, M., Lenas, P., and Yamada, Y. (1999) Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties, *J. Biol. Chem.*, **274**, 25085–25092.
 100. Adamia, S., Maxwell, C.A., and Pilarski, L.M. (2005) Hyaluronan and hyaluronan synthases: potential therapeutic targets in cancer, *Curr. Drug Targets Cardiovasc. Haematol. Disord.*, **5**, 3–14.
 101. Meyer, K. (1971) Hyaluronidases in *The Enzymes*, **5** (Boyer, P.D., ed.), Academic Press, N.Y., pp. 307–320.
 102. Chain, E., and Duthie, E.S. (1940) Identity of hyaluronidase and spreading factor, *Br. J. Expl. Path.*, **21**, 324–338.
 103. De Salegui, M., and Pigman, W. (1967) The existence of an acid-active hyaluronidase in serum, *Arch. Biochem. Biophys.*, **120**, 60–67.
 104. Afify, A.M., Stern, M., Guntenhoener M., and Stern, R. (1993) Purification and characterization of human serum hyaluronidase, *Arch. Biochem. Biophys.*, **305**, 434–441.
 105. Frost, G.I., Csoka T., and Stern, R. (1996) The hyaluronidases: a chemical, biological and clinical overview, *Trends Glycosci. Glycotech.*, **8**, 419–434.
 106. Hovingh, P., and Linker, A. (1999) Hyaluronidase activity in leeches (Hirudinea), *Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.*, **124**, 319–326.
 107. Yuki, H., and Fishman, W.H. (1963) Purification and characterization of leech hyaluronidase and endo-P-glucuronidase, *J. Biol. Chem.*, **238**, 1877–1879.
 108. Karlstam, B., Vincent, J., Johansson, B., and Bryno, C. (1991) A simple purification method of squeezed krill for obtaining high levels of hydrolytic enzymes, *Prep. Biochem.*, **21**, 237–256.
 109. Karlstam, B., and Ljungloef, A. (1991) Purification and partial characterization of a novel hyaluronic acid-degrading enzyme from Antarctic krill, *Polar Biol.*, **11**, 501–507.
 110. Stern, R., and Jedrzejas, M.J. (2006) The Hyaluronidases: Their Genomics, Structures, and Mechanisms of Action, *Chem. Rev.*, **106**, 818–839.

111. Stern, R. (2005) Hyaluronan metabolism: a major paradox in cancer biology, *Pathol. Biol.*, **53**, 372–382.
112. Csoka, A.B., Frost, G.I., and Stern, R. (2001) The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes, *Matrix Biol.*, **20**, 499–508.
113. Lokeshwar, V.B., Schroeder, G.L., Carey, R.I., Soloway, M.S., and Iida, N. (2002) Regulation of hyaluronidase activity by alternative mRNA splicing, *J. Biol. Chem.*, **277**, 33654–33663.
114. Lokeshwar, V.B., Obek, C., Pham, H.T., Wei, D., Young, M.J., Duncan, R.C., Soloway, M.S., and Block, M.L. (2000) Urinary hyaluronic acid and hyaluronidase: markers for bladder cancer detection and evaluation of grade, *J. Urol.*, **163**, 348–356.
115. Lepperdinger, G., Strobl, B., and Kreil, G. (1998) HYAL2, a human gene expressed in many cells, encodes a lysosomal hyaluronidase with a novel type of specificity, *J. Biol. Chem.*, **273**, 22466–22470.
116. Frost, G.I., Csoka, A.B., Wong, T., and Stern, R. (1997) Purification, cloning, and expression of human plasma hyaluronidase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **236**, 10–15.
117. Lesley, J., Hyman, R., and Kincade, P. (1993) CD44 and its interaction with extracellular matrix, *Adv. Immunol.*, **54**, 271–335.
118. Bourguignon, L.Y. (1996) Chapter 14 Interactions between the membrane-cytoskeleton and CD44 during lymphocyte signal transduction and cell adhesion, *Curr. Top. Membr.*, **43**, 293–312.
119. Bourguignon, L.Y.W., Lokeshwar, V.B., He, J., Chen, X., and Bourguignon, G.J. (1992) A CD44-like endothelial cell transmembrane glycoprotein (GP116) interacts with extracellular matrix and ankyrin, *Mol. Cell. Biol.*, **12**, 4464–4471.
120. Sreaton, G.R., Bell, M.V., Jackson, D.G., Cornelis, F.B., Gerth, U., and Bell, J.I. (1992) Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 12160–12164.
121. Bourguignon, L.Y.W., Zhu, H.B., Chu, A., Zhang, L., and Hung, M.C. (1997) Interaction between the adhesion receptor, CD44, and the oncogene product, p185HER2, promotes human ovarian tumor cell activation, *J. Biol. Chem.*, **272**, 27913–27918.
122. Bourguignon, L.Y., Zhu, D., and Zhu, H. (1998) CD44 isoform-cytoskeleton interaction in oncogenic signaling and tumor progression, *Front. Biosci.*, **3**, 637–649.
123. Olliferenko, S., Kaverina, I., Small, J.V., and Huber, L.A. (2000) Hyaluronic acid (HA) binding to CD44 activates Rac1 and induces lamellipodia outgrowth, *J. Cell Biol.*, **148**, 1159–1164.
124. Bretscher, A. (1999) Regulation of cortical structure by the ezrin-radixin-moesin protein family, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **11**, 109–116.
125. Bourguignon, L.Y., Zhu, H., Shao, L., and Chen, Y.W. (2000) CD44 interaction with tiam1 promotes Rac1 signaling and hyaluronic acid-mediated breast tumor cell migration, *J. Biol. Chem.*, **275**, 1829–1838.
126. Bourguignon, L.Y.W., Zhu, H., Shao, L., and Chen, Y.W. (2000) Ankyrin-Tiam1 interaction promotes Rac1 signaling and metastatic breast tumor cell invasion and migration, *J. Cell Biol.*, **150**, 177–191.
127. Bourguignon, L.Y.W., Zhu, H., Zhou, B., Diedrich, F., Singleton, P.A., and Hung, M.C. (2001) Hyaluronan (HA) promotes CD44v3-Vav2 interaction with Grb2-p185HER2 and induces Rac1 & Ras signaling during ovarian tumor cell migration and growth, *J. Biol. Chem.*, **277**, 48679–48692.
128. Assmann, V., Jenkinson, D., Marshall, J.F., and Hart, I.R. (1999) The intracellular hyaluronan receptor RHAMM/
- /IHABP interacts with microtubules and actin filaments, *J. Cell Sci.*, **112**, 3943–3954.
129. Lynn, B.D., Turley, E.A., and Nagy, J.I. (2001) Subcellular distribution, calmodulin interaction and mitochondrial association of the hyaluronan-binding protein RHAMM in rat brain, *J. Neurosci. Res.*, **65**, 6–16.
130. Entwistle, J., Hall, C.L., and Turley, E.A. (1996) Hyaluronan receptors: Regulators of signalling to the cytoskeleton, *J. Cell. Biochem.*, **61**, 569–577.
131. Zhang, S., Chang, M.C., Zylka, D., Turley, S., Harrison, R., and Turley, E.A. (1998) The hyaluronan receptor RHAMM regulates extracellular-regulated kinase. *J. Biol. Chem.*, **273**, 11342–11348.
132. Hall, C.L., Lange, L.A., Prober, D.A., Zhang, S., and Turley, E.A. (1996) pp60(c-src) is required for cell locomotion regulated by the hyaluronanreceptor RHAMM, *Oncogene*, **13**, 2213–2224.
133. Hall, C.L., Collis, L., Lange, L., McNicol, A., Gerrard, J.M., and Turley, E.A. (2001) Fibroblasts require protein kinase C activation to respond to hyaluronan with increased locomotion, *Matrix Biol.*, **20**, 183–192.
134. Hall, C.L., Yang, B., Yang, X., Zhang, S., Turley, M., Samuel, S., Lange, L.A., Wang, C., Curpen, G.D., Savani, R.C., Greenberg, A.H., and Turley, E.A. (1995) Overexpression of the hyaluronan receptor RHAMM is transforming and is also required for H-ras transformation, *Cell*, **82**, 19–26.
135. Hall, C.L., Wang, C., Lange, L.A., and Turley, E.A. (1994) Hyaluronan and the hyaluronan receptor RHAMM promote focal adhesion turnover and transient tyrosine kinase activity, *J. Cell Biol.*, **126**, 575–588.
136. Masellis-Smith, A., Belch, A.R., Mant, M.J., Turley, E.A., and Pilarski, L.M. (1996) Hyaluronan-dependent motility of B cells and leukemic plasma cells in multiple myeloma: Alternative usage of RHAMM and CD44, *Blood*, **87**, 1891–1899.
137. Ahrens, T., Assmann, V., Fieber, C., Termeer, C., Herrlich, P., Hofmann, M., and Simon, J.C. (2001) CD44 is the principal mediator of hyaluronic-acid-induced melanoma cell proliferation, *J. Invest. Dermatol.*, **116**, 93–101.
138. Savani, R.C., Cao, G., Pooler, P.M., Zaman, A., Zhou, Z., and DeLisser, H.M. (2001) Differential involvement of the hyaluronan (HA) receptors CD44 and receptor for HA-mediated motility in endothelial cell function and angiogenesis, *J. Biol. Chem.*, **276**, 36770–36778.
139. Toole, B.P. (2001) Hyaluronan in morphogenesis, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **12**, 79–87.
140. Auvinen, P., Tammi, R., Parkkinen, J., Tammi, M., Agren, U., Johansson, R., Hirvikoski, P., Eskelinen, M., and Kosma, V.M. (2000) Hyaluronan in peritumoral stroma and malignant cells associates with breast cancer spreading and predicts survival, *Am. J. Pathol.*, **156**, 529–536.
141. Anttila, M.A., Tammi, R.H., Tammi, M.I., Syrjanen, K.J., Saarikoski, S.V., and Kosma, V.M. (2000) High levels of stromal hyaluronan predict poor disease outcome in epithelial ovarian cancer, *Cancer Res.*, **60**, 150–155.
142. Liu, N., Gao, F., Han, Z., Xu, X., Underhill, C.B., and Zhang, L. (2001) Hyaluronan synthase 3 overexpression promotes the growth of TSU prostate cancer cells, *Cancer Res.*, **61**, 5207–5214.
143. Peterson, R.M., Yu, Q., Stamenkovic, I., and Toole, B.P. (2000) Perturbation of hyaluronan interactions by soluble CD44 inhibits growth of murine mammary carcinoma cells in ascites, *Am. J. Pathol.*, **156**, 2159–2167.
144. Yu, Q., Toole, B.P., and Stamenkovic, I. (1997) Induction of apoptosis of metastatic mammary carcinoma cells *in vivo* by disruption of tumor cell surface CD44 function, *J. Exp. Med.*, **186**, 1985–1996.

145. Yu, Q., and Stamenkovic, I. (1999) Localization of matrix metalloproteinase-9 to the cell surface provides a mechanism for CD44-mediated tumor invasion, *Genes Dev.*, **13**, 35–48.
146. Yu, Q., and Stamenkovic, I. (2000) Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis, *Genes Dev.*, **14**, 163–176.
147. Ahrens, T., Sleeman, J.P., Schempp, C.M., Howells, M., Hofmann, M., Ponta, H., Herrlich, P., and Simon, J.C. (2001) Soluble CD44 inhibits melanoma tumor growth by blocking cell surface CD44 binding to hyaluronic acid, *Oncogene*, **20**, 3399–3408.
148. Zeng, C., Toole, B.P., Kinney, S.D., Kuo, J.W., and Stamenkovic, I. (1998) Inhibition of tumor growth *in vivo* by hyaluronan oligomers, *Int. J. Cancer*, **77**, 396–401.
149. Nara, Y., Kato, Y., Torii, Y., Tsuji, Y., Nakagaki, S., Goto, S., Isobe, H., Nakashima, N., and Takeuchi, J. (1997) Immunohistochemical localization of extracellular matrix components in human breast tumours with special reference to PG-M/versican, *Histochem. J.*, **29**, 21–30.
150. Toole, B.P., Wight, T.N., and Tammi, M.I. (2002) Hyaluronan-cell interactions in cancer and vascular disease, *J. Biol. Chem.*, **277**, 4593–4596.
151. Ropponen, K., Tammi, M., Parkkinen, J., Eskelinen, M., Tammi, R., Lipponen, P., Egren, U., Alhava, E., and Kosma, V.M. (1998) Tumor cell associated hyaluronan as an unfavorable prognostic factor in colorectal cancer, *Cancer Res.*, **58**, 342–347.
152. Setälä, L.P., Tammi, M.I., Tammi, R.H., Eskelinen, M.J., Lipponen, P.K., Egren, U.M., Parkkinen, J., Alhava, E.M., and Kosma, V.M. (1999) Hyaluronan expression in gastric cancer cells is associated with local and nodal spread and reduced survival rate, *Br. J. Cancer*, **79**, 1133–1138.
153. Turley, E.A., Noble, P.W., and Bourguignon, L.Y.W. (2002) Signaling properties of hyaluronan receptors, *J. Biol. Chem.*, **277**, 4589–4592.
154. Csoka, A.B., Frost, G.I., Wong, T., and Stern, R. (1997) Purification and microsequencing of hyaluronidase isozymes from human urine, *FEBS Lett.*, **417**, 307–310.
155. Schroeder, G.L., Lorenzo-Gomez, M.F., Hautmann, S.H., Friedrich, M.G., Ekici, S., Huland, H., and Lokeshwar, V. (2004) A side by side comparison of cytology and biomarkers for bladder cancer detection, *J. Urol.*, **172**, 1123–1126.
156. Hautmann, S.H., Lokeshwar, V.B., Schroeder, G.L., Civantos, F., Duncan, R.C., Gnann, R., Friedrich, M.G., and Soloway, M.S. (2001) Elevated tissue expression of hyaluronic acid and hyaluronidase validates the HA-HAase urine test for bladder cancer, *J. Urol.*, **165**, 2068–2074.
157. Aboughalia, A.H. (2006) Elevation of hyaluronidase-1 and soluble intercellular adhesion molecule-1 helps select bladder cancer patients at risk of invasion, *Arch. Med. Res.*, **37**, 109–116.
158. Eissa, S., Kassim, S.K., Labib, R.A., El-Khouly, I.M., Ghaffer, T.M., Sadek, M., Razek, O.A., and El-Ahmady, O. (2005) Detection of bladder carcinoma by combined testing of urine for hyaluronidase and cytokeratin 20 RNAs, *Cancer*, **103**, 1356–1362.
159. Posey, J.T., Soloway, M.S., Ekici, S., Sofer, M., Civantos, F., Duncan, R.C., and Lokeshwar, V.B. (2003) Evaluation of the prognostic potential of hyaluronic acid and hyaluronidase (HYAL1) for prostate cancer, *Cancer Res.*, **63**, 2638–2644.
160. Ekici, S., Cerwinka, W.H., Duncan, R., Gomez, P., Civantos, F., Soloway, M.S., and Lokeshwar, V.B. (2004) Comparison of the prognostic potential of hyaluronic acid, hyaluronidase (HYAL-1), CD44v6 and microvessel density for prostate cancer, *Int. J. Cancer*, **112**, 121–129.
161. Franzmann, E.J., Schroeder, G.L., Goodwin, W.J., Weed, D.T., Fisher, P., and Lokeshwar, V.B. (2003) Expression of tumor markers hyaluronic acid and hyaluronidase (HYAL1) in head and neck tumors, *Int. J. Cancer*, **106**, 438–445.
162. Pham, H.T., Block, N.L., and Lokeshwar, V.B. (1997) Tumor-derived hyaluronidase: A diagnostic urine marker for high-grade bladder cancer, *Cancer Res.*, **57**, 778–783.
163. Lokeshwar, V.B., Schroeder, G.L., Selzer, M.G., Hautmann, S.H., Posey, J.T., Duncan, R.C., Watson, R., Rose, L., Markowitz, S., and Soloway, M.S. (2002) Bladder tumor markers for monitoring recurrence and screening comparison of hyaluronic acid-hyaluronidase and BTA-stat tests, *Cancer*, **95**, 61–72.
164. Lokeshwar, V.B., Cerwinka, W.H., and Lokeshwar, B.L. (2005) HYAL1 hyaluronidase in prostate cancer: a tumor promoter and suppressor, *Cancer Res.*, **65**, 2243–2250.
165. Lokeshwar, V.B., Cerwinka, W.H., Isoyama, T., and Lokeshwar, B.L. (2005) HYAL1 hyaluronidase in prostate cancer: A tumor promoter and suppressor, *Cancer Res.*, **65**, 7782–7789.
166. Lokeshwar, V.B., Estrella, V., Lopez, L., Kramer, M., Gomez, P., Soloway, M., and Lokeshwar, B. (2006) Amplification and expression of the Bcl-1 gene in human solid tumor cell lines, *Cancer Res.*, **66**, 11219–11227.
167. Fuchs, K., Hippe, A., Schmaus, A., Homey, B., Sleeman, J.P., and Orian-Rousseau, V. (2013) Opposing effects of high- and low-molecular weight hyaluronan on CXCL12-induced CXCR4 signaling depend on CD44, *Cell Death Dis.*, **4**, e819.
168. Tian, X., Azpurua, J., Hine, Ch., Vaidya, A., Myakishev-Rempel, M., Ablava, J., Mao, Z., Nevo, E., Gorbunova, V., and Seluanov, A. (2013) High-molecular-mass hyaluronan mediates the cancer resistance of the naked mole rat, *Nature*, **499**, 346–349.
169. Buffenstein, R. (2008) Negligible senescence in the longest living rodent, the naked mole-rat: insights from a successfully aging species, *J. Comp. Physiol. B*, **178**, 439–445.
170. Delaney, M.A., Nagy, L., Kinsel, M.J., and Treuting, P.M. (2013) Spontaneous Histologic lesions of the adult naked mole rat (*Heterocephalus glaber*): A retrospective survey of lesions in a zoo population, *Vet. Pathol.*, **50**, 607–621.
171. Seluanov, A., Hine, C., Azpurua, J., Feigenson, M., Bozzella, M., Mao, Z., Catania, K.C., and Gorbunova, V. (2009) Hypersensitivity to contact inhibition provides a clue to cancer resistance of naked mole-rat, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 19352–19357.
172. Tsepilov, R.N. (2013) Protective role of hyaluronic acid and hyaluronidase in the mechanism of overcoming carbohydrate deficiency shock by the culture of bacterial strain *Streptococcus zooepidemicus*, in *FEBS J.*, **280** (Suppl. 1), 38th FEBS congress, Saint Petersburg, pp. 104–105.
173. Цепилов Р.Н., Белодед А.В., Самойленко И.И. (2013) Оптимизация процесса культивирования *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* – продуцента гиалуроновой кислоты, *Журн. микробиол.*, **2**, 12–20.
174. Holden, M.T., Heather, Z., Paillet, R., Steward, K.F., Webb, K., Ainslie, F., Jourdan, T., Bason, N.C., Holroyd, N.E., Mungall, K., Quail, M.A., Sanders, M., Simmonds, M., Willey, D., Brooks, K., Aanensen, D.M., Spratt, B.G., Jolley, K.A., Maiden, M.C., Kehoe, M., Chanter, N., Bentley, S.D., Robinson, C., Maskell, D.J., Parkhill, J., and Waller, A.S. (2009) Genomic evidence for the evolution of *Streptococcus equi*: host restriction, increased virulence, and genetic exchange with human pathogens, *PLoS Pathogens*, **5**, e1000346.

175. Koyama, H., Hibi, T., Isogai, Z., Yoneda, M., Fujimori, M., Amano, J., Kawakubo, M., Kannagi, R., Kimata, K., Taniguchi, S., and Itano, N. (2007) Hyperproduction of hyaluronan in neu-induced mammary tumor accelerates angiogenesis through stromal cell recruitment: possible involvement of versican/PG-M, *Am. J. Pathol.*, **170**, 1086–1099.
176. Holmes, M.W., Bayliss, M.T., and Muir, H. (1988) Hyaluronic acid in human articular cartilage: age-related changes in content and size, *Biochem. J.*, **250**, 435–441.

HYALURONIC ACID IS AN «OLD» MOLECULE WITH «NEW» FUNCTIONS: BIOSYNTHESIS AND DEPOLYMERIZATION OF HYALURONIC ACID BY BACTERIA AND VERTEBRATES – ESPECIALLY IN CANCEROGENESIS

R. N. Tsepilov^{1*}, A. V. Beloded²

¹ N. F. Gamaleya Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Gamalei 18, Moscow 123098, Russia; fax: +7(499)193-6183, E-mail: biorad@gamaleya.org

² D. I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, ul. Miusskaya 9, Moscow 125047, Russia; fax: +7(495)495-2379, E-mail: biotech@muctr.ru

Received November 7, 2014

Revision received February 27, 2015

Hyaluronic acid is an ancient biopolymer molecule found in all tissues of vertebrates and the capsules of some bacteria. State-of-the-art data about the structure, properties, and biological functions of hyaluronic acid in mammals and *Streptococcus* bacteria are summarized. Various aspects of the biosynthesis and degradation of hyaluronic acid are discussed: mechanism and pathway of biosynthesis, enzymes, and genes of synthesis and cleavage of glycosaminoglycan among vertebrates and bacteria. Particular attention is paid to the mechanisms of biological action of hyaluronic acid and its interaction with different proteins. Important signaling pathways involving hyaluronic acid are described. Disorders of hyaluronic acid metabolism and changes in the molecular weight of the biopolymer and hyaluronidase activity are often correlated with oncogenesis. Interactions between cells and hyaluronic acid of the extracellular matrix, which may be important in the process of malignancy, are described. The proposed role of high molecular mass hyaluronic acid in cancer resistance of the naked mole rat and protective functions of hyaluronic acid in streptococci are discussed.

Key words: hyaluronic acid, hyaluronate synthases, hyaluronidases, hyaladherins, naked mole rat, Streptococci