Биомедицинская химия, 2016 том 62, вып. 1, с. 82-88.

ЛЕКЦИЯ

УДК 615.35, 615.36, 616-002, 616:612.017.1
©Коллектив авторов

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ГИАЛУРОНИДАЗ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА СОЕДИНИТЕЛЬНУЮ ТКАНЬ

Р.У. Хабриев[1], Н.О. Камаев[2], Т.И. Данилова[3]*, Е.Г. Кахоян[4]

[1]Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А.Семашко; тел.: (495) 917-03-9; эл. почта: institute@nriph.ru
[2]Российское антидопинговое агентство "РУСАДА"; тел.: (495) 788-40-60; эл. почта: rusada@rusada.ru
[3]ООО "Биоцентр"; тел.: (916) 227-40-99; эл. почта: t.i.danilova@mail.ru
[4]Фармацевтическая компания "Фарма"; тел.: (909) 910-31-06; эл. почта: ekakhoyan@yahoo.ru

Рассмотрены механизмы лечебного действия фермента гиалуронидазы на гиперплазированную соединительную ткань. Лекарственные средства на основе гиалуронидазы увеличивают биодоступность других лекарственных препаратов, используемых в комплексной терапии, существенно повышая эффективность лечения, а также обеспечивают направленный синтез гиалуроновой кислоты, что позволяет регулировать процесс регенерации соединительной ткани.

Ключевые слова: гиалуроновая кислота (гиалуронан), соединительная ткань, внеклеточный матрикс, классификация гиалуронидаз, гиалуронидаза из семенников крупного рогатого скота, гиалуронат-лиаза из непатогенного штамма бактерий рода *Streptomyces*

DOI: 10.18097/PBMC20166201082

ВВЕДЕНИЕ

Среди биотехнологических препаратов в медицинской практике всё шире применяются лекарственные средства на основе ферментов.

Ферменты играют ведущую роль в регулировании направления и скорости химических процессов, как у здоровых, так и у больных людей. Они регулируют различных видов обмена веществ (белкового, углеводного, липоидного, пуринового); их деятельность иногда связана с нарушениями функции желез внутренней секреции и т.д.

Гиалуронидаза является компонентом системы гиалуронатсинтетаза – гиалуроновая кислота – гиалуронидаза. Этот фермент обладает уникальными свойствами, направленными на регулирование процесса регенерации соединительной ткани. Лекарственные средства на основе гиалуронидазы способствуют направленному синтезу гиалуроновой кислоты, а также увеличивают биодоступность других лекарственных препаратов, используемых в комплексной терапии, существенно повышая эффективность лечения.

1. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ СИСТЕМЫ ГИАЛУРОНАТСИНТЕТАЗА - ГИАЛУРОНОВАЯ КИСЛОТА – ГИАЛУРОНИДАЗА НА СОЕДИНИТЕЛЬНУЮ ТКАНЬ

Пространство между клетками занимает соединительная ткань, которая выполняет вспомогательную роль во всех органах, составляя 60-90% от их массы. Соединительная ткань – единственная ткань, которая присутствует в организме в 4-х видах — волокнистом (связки), твёрдом (кости), гелеобразном (хрящи, межклеточное вещество) и жидком (кровь, лимфа, а также межклеточная, спинномозговая, синовиальная и прочие жидкости). В связи с этим большинство известных заболеваний можно, так или иначе, связать с патологией соединительной тканью и её элементов.

Соединительная ткань происходит из мезодермы и является очень активной физиологической системой, определяющей внутреннюю среду организма. В человеческом организме эту ткань можно рассматривать как единую систему с принципом обратной связи, которая реализует взаимодействие между другими тканями (эпителиальной, мышечной, нервной и др.).

Принципиальное отличие соединительной ткани от любого другого типа ткани – это избыток внеклеточного матрикса (ВКМ) при сравнительно небольшом числе клеток, составляющих ткань. В молекулярной биологии ВКМ определён как сложная сеть, сформированная многочисленными структурными макромолекулами (такими как протеогликаны, гликозаминогликаны, коллаген и эластин). Взаимодействуя друг с другом и с клетками, эти структурные макромолекулы поддерживают структурную целостность тканей.

Среди клеток соединительной ткани выделяют собственно соединительно-тканные – фибробласты – и такие их специализированные разновидности, как хондробласты (юные клетки хрящевой ткани, активно образующие межклеточное вещество), остеобласты, синовиоциты; макрофаги, лимфоциты.

Функции соединительной ткани, как и сама ткань, разнообразны. Наиболее общая функция всех соединительных тканей – поддержание постоянства

* - адресат для переписки

внутренней среды организма (гомеостатическая). Она включает ряд частных функций, к которым относятся: *трофическая* (обеспечение других тканей питательными веществами); *дыхательная* (обеспечение газообмена в тканях); *регуляторная* (влияние на деятельность других тканей посредством биологически активных веществ и контактных взаимодействий); *защитная* (обеспечение разнообразных защитных реакций); *транспортная* (обусловливает все предыдущие функции, так как обеспечивает перенос питательных веществ, газов, регуляторных веществ, защитных факторов и клеток); *опорная*, *механическая* – формирование стромы (поддерживающих и опорных элементов для других тканей) и капсул различных органов, а также образование (в качестве функционально ведущих тканей) органов, выполняющих роль опорных и защитных элементов в организме (сухожилий, связок, хрящей, костей). Синтезом большинства функций ВКМ является своеобразное информационное обеспечение всех клеток и систем организма и через сосудистую систему, и через сам матрикс посредством разнообразных лигандов – нейротрансмиттеров, цитокинов, гормонов, интерлейкинов и т.д.

Волокнистые соединительные ткани являются наиболее типичными представителями группы соединительных тканей, отчего их называют также собственно соединительными тканями. Как и другие ткани этой группы, они характеризуются высоким содержанием ВКМ и относительно малым количеством клеточных образований.

Механически структура геля усилена посредством волокон трёх основных типов: 1) коллагеновых волокон (состоящих главным образом из коллагена), которые формируют скелет соединительной ткани; 2) гибких волокон (состоящих в основном из эластина и фибриллинов), которые придают соединительной ткани эластичность; 3) сетчатых (или ретикулярных) волокон (коллаген III), которые образуют перекрёстные связи между всеми другими волокнами и держат вместе все остальные компоненты ткани.

Протеогликаны – класс сложных белков внеклеточного матрикса. Они состоят из различных стержневых (коровых) белков, к которым через N- и O-гликозидные связи присоединены олигосахариды, связанные с цепями гликозамингликанов.

Протеогликаны выполняют функции рецепторов при сборке ВКМ, облегчают клеточное прикрепление и регулируют процессы роста клеток. Они также могут образовывать комплексы с некоторыми белками, например, факторами роста. В образовавшихся комплексах белки защищены от протеолитических ферментов. Эти комплексы выполняют функцию резервуаров, и только в случае необходимости фактор роста освобождается из них и приобретает способность проявлять свою биологическую активность.

Одним их основных компонентов ВКМ является гликозаминогликан – гиалуроновая кислота (ГК), называемая гиалуронаном. Это несульфатированный гликозаминогликан, неразветвлённый полисахарид, состоящий из повторяющихся 2000-2500 звеньев дисахаридных единиц, образованных N-ацетил-D-глюкозамином и D-глюкуроновой кислотой, которые соединены между собой β-1,3- и β-1,4-гликозидными связями (рис. 1). Молекулярная масса ГК колеблется в пределах от 10000 до нескольких миллионов Да.

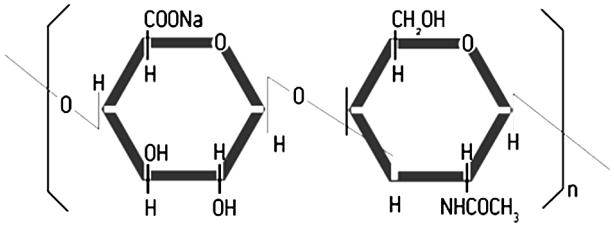

Рисунок 1. Фрагмент гиалуроновой кислоты.

Нити гиалуронана скрепляют структуру геля в единое целое, и этот полисахаридный “гель” может противостоять сжатию и растяжению ВКМ и в то же время обеспечивать быструю диффузию питательных веществ, строительных материалов и гормонов между кровью и клетками соединительной ткани.

Природная ГК входит в состав синовиальной жидкости, стекловидного тела, встречается в пупочном канатике, роговице, костях, клапанах сердца, оболочках яйцеклеток. Вторичная структура ГК представляет собой спирально закрученную ленту с большим внутренним пространством. Третичная структура – это рыхлый клубок произвольной формы. Наличие ГК в коже было впервые продемонстрировано К. Мейером.

ГК, входящая в состав соединительной ткани, является компонентом системы гиалуронатсинтетаза – гиалуроновая кислота – гиалуронидаза (рис. 2).

Рисунок 2. Система гиалуронатсинтетаза - гиалуроновая кислота - гиалуронидаза.

Синтез ГК осуществляется в фибробластах под действием фермента гиалуронатсинтазы. У человека имеется три гиалуронатсинтазы – HAS1, HAS2 и HAS3. Они кодируются различными генами, которые локализованы на разных

хромосомах и произошли от общего предка. Каждый из синтезируемых HAS-белков (гиалуронатсинтаз) может играть специфическую роль в биосинтезе гиалуронана. На его синтез влияют гормоны, цитокины, факторы роста, некоторые лекарственные вещества.

ГК обладает высокой связывающей способностью с водой и образует очень вязкие растворы. Имея большое количество отрицательных зарядов, ГК притягивает катионы натрия, калия, кальция и магния, что и вызывает поступление воды в матрикс. Связывая интерстициальную воду во внутриклеточном матриксе, ГК обеспечивает повышение сопротивления тканей к сжатию, ионный обмен, транспорт и распределение воды в тканях.

Этот широко распространённый гиалуронан динамически включается во многие биологические процессы – от модуляции клеточной миграции и дифференцировки во время эмбриогенеза до регуляции метаболизма экстрацеллюлярного матрикса и важной роли в заживлении ран и воспалительном процессе.

Благодаря своим свойствам, ГК находит применение в клинической практике. Она входит в состав препаратов с дезинфицирующим, противовоспалительным и ранозаживляющим действием. Вместе с тем ГК участвует в процессах роста и регенерации, уменьшает проницаемость барьерных тканей, предотвращает образование грануляционной ткани и рубцов.

Клеточные рецепторы к ГК имеют фибробласты, микрофаги, лимфоциты. Существует несколько видов мембранных рецепторов, наиболее известны среди них CD44 и RHAMM. Среди внеклеточных рецепторов – фибриноген, коллаген VI типа, аггрекан, верзикан. Специфическое воздействие молекулы ГК и её фрагментов с рецептором приводит к активации синтеза коллагена, самой ГК и других компонентов межклеточного вещества, регуляторных молекул; регуляции деления и дифференцировки клеток, клеточной подвижности и миграции в норме и при патологии (естественная регенерация, репарация повреждений, поддержание гомеостаза). Взаимодействие с клеточными рецепторами лежит в основе иммунорегуляторных, в том числе противовоспалительных свойств ГК.

Являясь строительным материалом для фибробластов, коллагеновых и эластиновых волокон, ГК с нормальными количественными и качественными характеристиками оказывает регулирующее действие на формирование коллагеновых волокон в зоне повреждения (в частности, операционной раны), препятствуя образованию атипичного коллагена, то есть развитию патологического рубца. Дефицит ГК либо ускоренное расщепление её собственной гиалуронидазой также провоцирует сосудистые нарушения, так как ГК необходима для ангиогенеза.

Совсем недавно стало известно, что ГК является не только одним из основных компонентов ВКМ, но и входит в состав гликокаликса (внешней мембраны) клеток и их рецепторов к биологически активным веществам. При этом модификация свойств ГК мембранных структур может сопровождаться изменением аффинности рецепторного аппарата клеток.

Известно, что биологические свойства (в том числе – иммунная активность) ГК меняются в зависимости от её молекулярной массы. Высокомолекулярная ГК является противовоспалительным агентом, способствует снижению уровня провоспалительных цитокинов и играет активную роль в поддержании иммунной толерантности, способствует индукции регуляторных Т-клеток, подавляет фагоцитарную активность моноцитов и реакцию антиген-антитело, препятствует активации лимфоцитов.

Тетра- и олигосахариды ГК в месте повреждения связываются с рецепторами CD44, RHAMM, LYVE-1, TLR2 и TLR4, расположенными на поверхности различных иммунокомпетентных клеток (моноцитов, Т-лимфоцитов, макрофагов и др.), что приводит к внутриклеточной индукции синтеза провоспалительных цитокинов (макрофагальных воспалительных белков: МВБ-1α и МВБ-1β; белка хемотаксиса моноцитов 1; интерлейкинов: ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-1β; фактора некроза опухолей: ФНОα) и развитию каскада воспалительных реакций.

В настоящее время достоверно установлено, что тетра- и гексасахариды ГК обладают иммуностимулирующей активностью и вызывают иммунофенотипическое созревание моноцитарных дендритных антигенпрезентирующих клеток кожи. Причём малые фрагменты ГК (тетра- и гексасахариды) приводят к увеличению размеров дендритных клеток и стимулируют продукцию противовоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ФНОα и ИЛ-12. Фрагменты ГК с молекулярной массой 135 кДа вызывают созревание дендритных клеток и стимулируют развитие аллоиммунитета, например, при трансплантации органов.

Деградация ГК под действием гиалуронидазы с образованием значительного количества средне- и низкомолекулярных фрагментов этого полисахарида повышает функциональную активность стволовых клеток в организме.

Можно сделать вывод, что ГК является важным регулятором функций иммунных клеток. Фрагменты с низкой молекулярной массой выступают в роли сигнальных молекул, сообщающих о повреждении тканей и мобилизирующих иммунные клетки, а высокомолекулярные формы ГК подавляют иммунные функции клеток и предотвращают чрезмерное обострение воспаления.

По мере старения организма всё большее количество ГК переходит из свободного состояния в связанное (с белками). При этом она частично утрачивает свои уникальные способности, а именно: ингибировать реакции свободно-радикального окисления, вовлекаться в метаболический путь и стимулировать фибробласты, привлекать и удерживать воду.

Компенсаторное повышение активности фермента катаболизма ГК – гиалуронидазы происходит при воспалении, отёке, а потеря активности гиалуронидазы приводит к накоплению гиалуроновой кислоты, что в свою очередь приводит к фиброзу и склерозу. Фиброз представляет собой универсальный процесс, основу которого составляет накопление протеинов ВКМ и уплотнение соединительной ткани (рубцовые изменения), возникающее, как правило, в результате хронического воспаления, а склероз – замена паренхимы органов плотной соединительной тканью, то есть уплотнение органов, вызванное гибелью функциональных элементов и заменой их фиброзной тканью. Среди наиболее распространённых причин патологического фиброза и склероза главное место занимают воспалительные процессы, особенно те, которые связаны с хроническим воспалительным процессом, обусловленным как инфекционными, так и неинфекционными факторами. Хронический воспалительный процесс приводит к нарушению функции клеток и ВКМ соединительной ткани и в итоге гиперплазии (патологический рост) соединительной ткани. Гиперплазия соединительной ткани, всегда протекает на фоне нарушения функций иммунной системы – ослабления или гиперактивности иммунного ответа. При гиперактивности иммунной системы активированные фагоциты усиленно продуцируют провоспалительные цитокины – мощные стимуляторы функции фибробластов. Фагоцитирующие клетки “выбрасывают” в окружающую среду свободные радикалы, которые, уничтожая инфекцию, повреждают также и нормальные ткани. В случае ослабленной иммунной системы развивающееся хроническое воспаление также сопровождается повреждением тканей, что активирует продуктивную фазу воспаления и ведет к развитию патологического роста соединительной ткани.

Ключевым механизмом формирования продуктивной фазы воспаления является стимуляция фибробластов, как продуктами деструкции соединительной ткани, так и цитокинами, синтезируемыми макрофагами.

В каком бы органе не развился фиброз – он приводит к существенному ухудшению прогноза заболевания и к ухудшению качества жизни пациента. Борьба с патологическим ростом соединительной ткани – это одна из важных задач практически в каждой отрасли медицины.

В настоящее время достоверно установлено, что хронические склеротические заболевания генетически обусловлены. В случае развития процесса склерозирования даже в одном органе при дальнейшем прогрессировании процесса формируются как полиорганные дисфункции, так и дисфункции интегративно-регуляторной мегасистемы организма – нейро-эндокринно-иммунной системы. Прогнозированию процесса склерозирования и поиску принципиально новых подходов к решению проблем склероза и фиброза, несомненно, поможет открытие генов и генетических структур, ответственных за этот процесс.

Очевидно, что для лечения патологических состояний, сопровождающихся разрастанием соединительной ткани, необходимо комплексное воздействие как на сформировавшийся фиброзный процесс с целью его рассасывания, так и на воспалительные реакции, стимулирующие его формирование.

2. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ И КЛАССИФИКАЦИЯ ГИАЛУРОНИДАЗ

Гиалуронидаза обладает комплексным воздействием на гиперплазированную соединительную ткань. Это фермент облегчает циркуляцию жидкостей в межтканевых пространствах, увеличивает проницаемость тканей, способствует замедлению и предотвращению патологического роста соединительной ткани при различных заболеваниях.

Благодаря своему действию гиалуронидаза ликвидирует причину гиперплазии соединительной ткани, подавляя воспалительный процесс. Действие гиалуронидазы носит обратимый характер. При снижении её концентрации вязкость гиалуроновой кислоты восстанавливается, то есть лекарственные средства на основе гиалуронидазы способствуют направленному синтезу гиалуроновой кислоты из её низкомолекулярных фрагментов, а также увеличивает биодоступность других лекарственных средств, используемых в комплексной терапии, существенно повышая эффективность лечения.

Чем патогеннее и опаснее микроорганизмы, тем больше они продуцируют гиалуронидазы – для них она служит фактором вирулентности. Слюнные железы самых ядовитых змей выделяют большое количество гиалуронидазы – для них она фактор ядовитости. Чем более автономными, полиморфными и атипичными становятся раковые клетки, тем больше они производят гиалуронидазы – для них она является фактором метастазирования. В то же время этот фермент очень широко используется в терапевтических целях.

Большое биологическое значение имеет участие ГК в процессе оплодотворения, так как проникновение сперматозоида внутрь яйцеклетки становится возможным только после гидролитического расщепления ГК, скрепляющих фолликулярные клетки вокруг яйцеклетки, гиалуронидазой сперматозоидов. Подобное действие гиалуронизазы используется в методе интрацитоплазматической инъекции (ИКСИ), которая является одной из самых эффективных вспомогательных репродуктивных технологий, используемых при самых тяжёлых формах бесплодия у мужчин. ИКСИ оплодотворение позволяет добиться успеха даже в том случае, если у мужчины имеется врождённое отсутствие семявыводящих каналов, а также после вазэктомии.

В организме человека идентифицировано несколько типов гиалуронидазы, локализованных как в цитоплазме клеток, так и во ВКМ. Согласованная работа этих ферментов способствует поддержанию оптимального баланса ГК в соединительной ткани. Модификация свойств ГК с помощью гиалуронидазы

позволяет эффективно управлять регенераторным потенциалом клеток ВКМ и, тем самым, значительно влиять на течение репаративных процессов в тканях. Учитывая вышеуказанные обстоятельства, весьма перспективным является использование гиалуронидаз различных типов для получения фрагментов ГК с различной молекулярной массой для управления генераторным потенциалом ткани.

В соответствии с классификацией, составленной Карлом Мейером, гиалуронидазы можно разделить на типы с использованием таких признаков как источник фермента, субстраты, условия, тип катализируемой реакции, образующиеся продукты.

Из ферментов, способных гидролизовать гликозаминогликаны, наиболее изучена гиалуронидаза **типа I** (гиалуронат-эндо-β-N-ацетилгексозаминидазы, КФ 3.2.1.35):

- *Tun Ia*. Собственно тестикулярная гиалуронидаза. Содержится в семенниках и в сперме млекопитающих, молоках рыб.
- *Tun Ib*. Лизосомальная гиалуронидаза. Содержится в лизосомах клеток различных тканей (печень, синовиальная ткань и др.), а также в некоторых физиологических жидкостях (сыворотка крови, синовиальная жидкость и др.).

Специфическое действие гиалуронидаз этих типов направлено на β-1,4-гликозидную связь между дисахаридными единицами гиалуроновой кислоты (рис. 3).

Конечными продуктами гидролиза гиалуронана гиалуронидазами типов *Ia* и *Ib* являются тетрасахариды, содержащие аминосахар на восстанавливающем конце молекулы. Такие гиалуронидазы обнаружены в семенниках животных, печени, почках, селезёнке, сыворотке крови, синовиальной жидкости.

- *Tun Ic*. Субмандибулярная гиалуронидаза. Гиалуронидазы этого типа *Ic* содержатся в ядах пчёл, скорпионов. Эти ферменты отличаются между собой по субстратной специфичности, кроме ГК они могут расщеплять хондроитин.

Кроме того, тестикулярная (*Ia*) и лизосомальная (*Ib*) гиалуронидазы способны к трансгликозилазной активности, проявляющейся в перенесении дисахаридных фрагментов между молекулами субстрата.

Тип II. Гиалуронидаза слюны пиявок (гиалуронат-эндо-β-глюкуронидаза, КФ 3.2.1.36). Способствует нарушению целостности сосудистой стенки, следствием чего возникает капиллярное кровотечение, а именно кровью и питаются пиявки.

Фермент гидролизует β-глюкуронидные связи исключительно в ГК. Конечными продуктами гидролиза являются тетрасахариды, имеющие глюкуроновую кислоту на восстанавливающем конце молекулы.

Гиалуронидазы синтезируются не только в организме человека и животных, но и являются продуктом микробного синтеза. Это **тип III** (гиалуронат-лиазы; элиминирующие гиалуронат-эндо-β-N-ацетилгексозаминидазы, КФ 4.2.99.1). Эти ферменты катализируют разрыв связей C–O, C–C, C–N, а также обратимые реакции отщепления различных групп от субстратов не гидролитическим путём. Эти реакции сопровождаются образованием двойной связи или присоединением групп к месту разрыва двойной связи.

- *Tun IIIa*. Выделяется из многих видов бактерий (*Clostridium perfringens*, *Proteus vulgaris*, родов *Pneumococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Flavobacterium* и др.). Конечными продуктами ферментативной реакции в случае гиалуронидазы типа *IIIa* являются дисахариды с аминосахаром на восстанавливающем конце молекулы.
- *Tun IIIb*. Выделяется из бактерий рода *Streptomyces*, содержащихся в почве. Субстратом является исключительно ГК, а конечными продуктами являются тетра- и гексасахариды с N-ацетилглюкозамином на восстанавливающем конце молекулы.

В настоящее время в России главным образом используются препараты тестикулярной

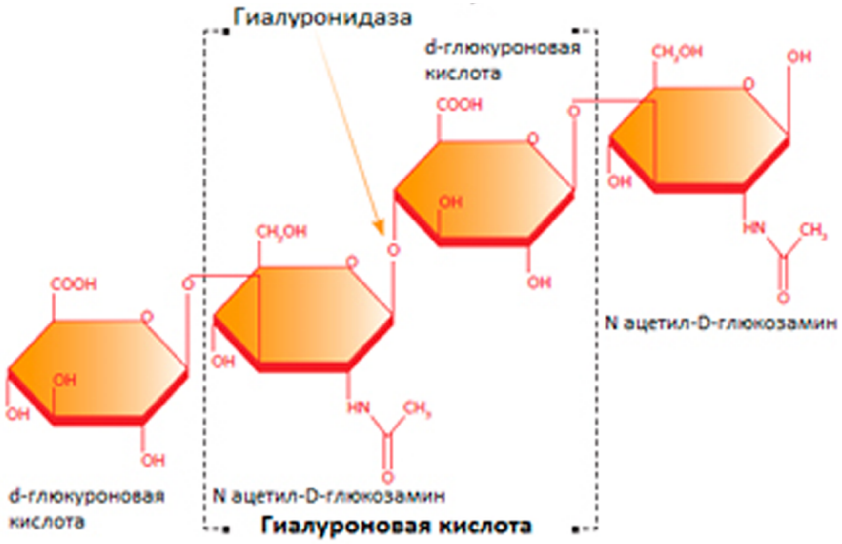

Рисунок 3. Деполимеризация гиалуроновой кислоты гиалуронидазой типа I (гиалуронат-эндо-β-N-ацетилгексозаминидазой).

гиалуронидазы, выделенной из семенников крупного рогатого скота (ронидаза, лидаза, лонгидаза). По литературным данным даже в очищенных препаратах до 20% терапевтической дозы лидазы приходится на долю высокоаллергенных белков, и прежде всего – бычьего сывороточного альбумина, что значительно увеличивает антигенную нагрузку на организм.

Кроме того необходимо учитывать, что недавние исследования свидетельствуют о том, что медицинские препараты на основе животного сырья перестали отвечать требованию безопасности. Препараты из животного сырья стали рассматриваться как объекты, которые теоретически могут служить источниками прионовых инфекций. В большинстве цивилизованных стран продажа лекарств, получаемых из органов и тканей крупного рогатого скота, была запрещена. В России законодательные меры коснулись лекарственных препаратов животного происхождения лишь частично.

Модифицированные (иммобилизованные) препараты, содержащие в своём составе полиоксидоний (лонгидаза – производитель “Петровакс-Фарм”) или конъюгат гиалуронидазы с полиэтиленгликолем (Группа компаний “СФМ” (Новосибирск) и НИИ фармакологии СО РАМН под руководством академика А.М. Дыгая) содержат в своём составе субстанцию гиалуронидазы, полученную из бычьих семенников, то есть лидазу.

Кроме генезиса, используемых в отечественной практике ферментов этого класса необходимо обратить внимание на концентрацию тестикулярной гиалуронидазы в лекарственных препаратах. Лонгидаза применяется в дозах 1500 и 3000 МЕ. Эти дозы выбраны не случайно, поскольку именно они обеспечивают терапевтический эффект. Однако высокие дозы отрицательно сказываются на экономической целесообразности выпуска препарата. Разработчикам приходится закупать субстанцию гиалуронидазы (лидазы) высокого качества, производить достаточно дорогой полиоксидоний и т.д.

Коллектив исследователей под руководством академика А.М. Дыгая показал, что относительно низкие дозы гиалуронидазы (менее 1000 МЕ) приводят к повышению функциональной активности мезенхимальных предшественников и кроветворных предшественников костного мозга. Увеличение дозы нативной гиалуронидазы (до 5000 МЕ) сопровождается нарушением функционирования стволовых клеток и, следовательно, разобщением процессов пролиферации и дифференциации прогениторных клеток. Причём результаты свидетельствуют о том, что соотношение различных молекулярных форм ГК в тканях, определяемое уровнем гиалуронидазной активности, играет важную роль в регуляции функций родоначальных клеток.

Препараты гиалуронидазы типа *IIIa* не могут использоваться в медицинской практике из-за того, что продуцентами этих ферментов являются патогенные микроорганизмы.

Японскими исследователями был выделен из почвы штамм *Streptomyces sp.* 81-10, который по морфолого-культуральным и физико-химическим свойствам был идентифицирован авторами как новый вид *Streptomyces hyalurolyticus*. Выделенный фермент – гиалуронидаза типа *IIIb* отличается от известных бактериальных гиалуронидаз высокой термостабильностью, то есть не теряет активности при нагревании до 750°С в течении 30 мин, а также стабилен в широком диапазоне pH от 4,0 до 10,0 при 370°С. Позднее был получен новый штамм *Streptomyces koganeiensis* 8231, синтезирующий гиадуронидазу, устойчивую к действию протеолитических ферментов.

Микроорганизмы существуют в самых различных условиях, каких нет ни у животных, ни у высших растений, поэтому количество, разнообразие и активность микробных ферментов исключительны. Микроорганизмы быстро размножаются и сравнительно легко адаптируются к окружающей их среде. В этом отношении высшие растения и животные не могут конкурировать с ними. Кроме того, как отмечалось выше высокоочищенные биопрепараты, продуцентами которых являются непатогенные микроорганизмы, не опасны для человека, поскольку не содержат в своём составе вирусов и прионовых белков.

Становится очевидным, что наиболее перспективными продуцентами гиалуронидазы типа *IIIb* (гиалуронат-лиазы) являются непатогенные штаммы бактерий рода Streptomyces. Эти ферменты обладают высокой субстратной специфичностью и не представляют опасности для организма человека.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Воронков А.В., Степанова Э.Ф., Жидкова Ю.Ю., Гамзелева О.Ю.* (2014) Современные подходы фармакологической коррекции патологических рубцов. Фармацевтические науки, №3, 301-308.
2. *Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В., Зюзьков Г.Н. и др.* (2008) Фармакологические аспекты регенеративной медицины. Бюлл. экспер. биол. мед. Приложение 2. 14-21.
3. *Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В., Чайковский А.В.* (2012) Гипогликемические свойства иммобилизованной с помощью нанотехнологиии электронно-лучевого синтеза гиалуронат-эндо-β-N-ацетилгекзозаминидаза. Бюлл. экспер. биол. мед., **153**, №1, 106-110.
4. *Здановский В.М., Гоголевский П.А., Хилькевич Л.В.* (1996) Первые положительные результаты лечения мужского бесплодия методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида. Проблемы репродукции, №2, 53-56.
5. *Кац Я.А., Пархонюк Е.В., Корсунова Е.Н., Скрипцова С.А.* (2015) Хроническая склеротическая болезнь. Современные проблемы науки и образования, № 1.
6. *Лучина Е.Н.* (2015) Динамика показателей психоэмоционального статуса больных с рубцовыми изменениями кожи в процессе лечения препаратами на основе гиалуронидазы. Справочник врачей общей практики, №3, с. 83-86.

7. *Мехтиев С.Н., Степаненко В.В., Зиновьева Е.Н., Мехтиева О.А.* (2014) Современные представления о фиброзе и методах его коррекции. Фармотека, **5**, №279, 80-87.
8. *Михайлова Н.П., Кочурова И.В., Базарный В.В.* (2012) Иммунотропные эффекты гиалуроновой кислоты в дерматологии. Мезотерапия, №12(17).
9. *Покровский В.И., Киселев О.И., Черкасский Б.Л.* (2004) Прионы и прионные болезни. РАМН, 384 с.

Поступила: 26. 10. 2015.
Принята к печати: 04. 02. 2016.

PECULIARITIES OF THE ACTION OF HYALURONIDASE OF DIFFERENT ORIGIN TO THE CONNECTIVE TISSUE

***R.U. Habriyev*[1], *N.O. Kamayev*[2], *T.I. Danilova*[3], *E.G. Kakhoyan*[4]**

[1]Semashko National Research Institute of Public Health,
12 bld. 1 Vorontsovo Pole str., Moscow, 105064 Russia; tel.: (495) 917-03-9; e-mail: institute@nriph.ru
[2]Russian Anti-Doping Agency RUSADA; tel.: (495) 788-40-60; e-mail: rusada@rusada.ru
[3]"Biocenter" Ltd,
92 Lenin av., Ivanovo, Ivanovo region, 153002 Russia; tel.: (916) 227-40-99; e-mail: t.i.danilova@mail.ru
[4]"Russian pharmaceutical company "Pharma"" Ltd,
3 Vasnetsov lane, Moscow, 129090 Russia; tel.: (909) 910-31-06; e-mail: ekakhoyan@yahoo.ru

The lecture is devoted to consideration of mechanism of therapeutic action of the enzyme hyaluronidase in hyperplastic connective tissue. Drugs based on hyaluronidase increase bioavailability of other drugs used in adjuvant therapy; they significantly increase effectiveness of treatment, and also provide targeted synthesis of hyaluronic acid, ths regulating the regeneration process of connective tissue.

Key words: hyaluronic acid (hyaluronan), connective tissue, extracellular matrix, classification of hyaluronidase, hyaluronidase from the testes of cattle, hyaluronate-lyase from non-pathogenic strain of bacteria of the genus *Streptomyces*