

УДК 576.54

РОЛЬ ЩЕЛЕВЫХ КОНТАКТОВ ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ И СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

© 2021 г. М. И. Ездакова¹, Д. К. Матвеева¹, С. В. Буравков², Е. Р. Андреева^{1,*}

¹ФГБУН ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*E-mail: andreeva_er@mail.ru

Поступила в редакцию 01.12.2020 г.

После доработки 11.12.2020 г.

Принята к публикации 24.12.2020 г.

Щелевые контакты являются одними из самых высокотехнологичных по структуре видов межклеточной коммуникации, обеспечивая не только передачу электрического импульса, но и метаболическую кооперацию между клетками за счет непосредственного обмена цитоплазматическими компонентами. Взаимодействие через щелевые контакты эндотелия и клеток стромального дифферона вносит существенный вклад в контроль состояния сосудистой стенки, а также в регуляцию гомеостаза других тканей как при физиологических, так и при патологических условиях. В данном обзоре представлены современные данные о гомоклеточных щелевых контактах в эндотелиальных клетках и стромальных предшественниках, а также роли гетероклеточной коммуникации через эти структуры при взаимодействии.

Ключевые слова: клетки стромального дифферона, эндотелиальные клетки, межклеточная коммуникация, щелевые контакты.

DOI: 10.31857/S0131164621030048

Функционирование различных систем тканей и органов в условиях физиологического гомеостаза и ремоделирования при повреждении определяется согласованностью взаимодействия клеток друг с другом и неклеточным микроокружением. Формирование специализированных структур при межклеточном взаимодействии не только обеспечивает скрепление клеток (однотипных и разнотипных) при формировании тканей и органов, но и позволяет осуществлять информационный обмен с помощью проводящих (коммуникационных) соединений, к которым относятся синапсы и щелевые контакты (ЩК). Последние являются важнейшим физиологическим инструментом, обеспечивая электрическое и метаболическое сопряжение. Через ЩК происходит прямой обмен ионами, вторичными мессенджерами и другими метаболитами. Это позволяет клеткам эффективно взаимодействовать и формировать не просто механические скопления, но клеточные системы с высокой степенью функциональной интеграции. Известно, что ЩК участвуют в регуляции таких важных процессов, как пролиферация, миграция, дифференцировка различных типов клеток, обеспечивая поддержание тканевого гомеостаза [1–3]. Организация таких межклеточных соединений возможна между клет-

ками как одного, так и разных типов (гомоклеточные и гетероклеточные контакты).

Возможность образования гетероклеточных ЩК между эндотелиальными клетками и стромальными предшественниками различной коммитированности представляет особый интерес. Эндотелиальные клетки (ЭК) – принципиальный компонент сосудистой системы. Однако формирование функциональной сосудистой сети невозможно без участия других компонентов, включая внеклеточный матрикс и клетки стромального дифферона, такие как мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК), периваскулярные клетки (перициты), гладкомышечные клетки (ГМК), фибробласты [4]. Таким образом, нормальный гомеостаз кровеносной системы в значительной мере определяется эффективностью гомо- и гетероклеточных взаимодействий клеток, формирующих сосудистую стенку. Кроме того, эти контакты могут быть эффективным регуляторным инструментом при репаративном ангиогенезе.

Взаимодействие ЭК и стромальных предшественников не ограничено только формированием и поддержанием циркуляторного русла. Согласно современным представлениям, периэндотелиальная область кровеносных сосудов

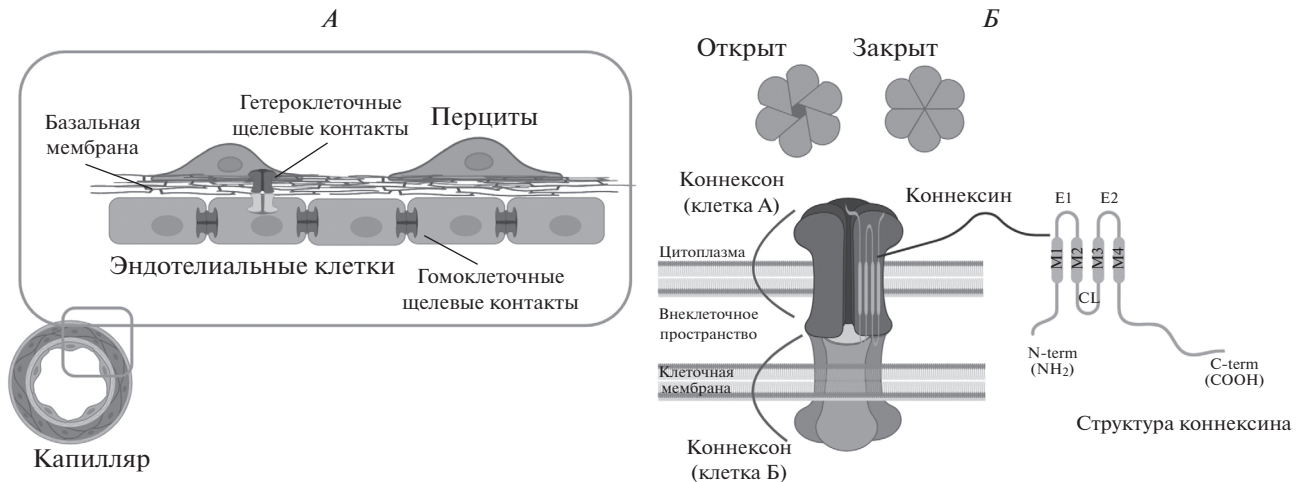


Рис. 1. Организация щелевого контакта (ЩК).

А – ЩК между клетками одного (гомоклеточные) и разных типов (гетероклеточные) в стенке капилляра. *Б* – структура ЩК. Симметричные мембранные структуры (коннексоны) двух соседних клеток образуют прямой канал. Коннексоны включают в себя 6 белковых субъединиц – коннексинов (Сх). Сх состоит из четырех трансмембранных доменов (M1, M2, M3 и M4), одной внутриклеточной петли (CL) и двух внеклеточных петель (E1 и E2); как N-, так и C-концы являются цитоплазматическими.

является одним из наиболее вероятных локальных клеточных депо МСК – гетерогенной популяции стромальных клеток-предшественников, активно вовлеченных в процессы поддержания и ремоделирования различных тканей [5]. Можно предположить, что физиологическое ремоделирование и восстановление тканей при повреждении происходит с участием МСК, мобилизованных из таких периэндотелиальных депо. Есть данные, что эндотелиальные клетки могут участвовать в регуляции функциональной активности МСК и их более комитированных потомков, внося вклад в обеспечение метаболизма, в частности, костной ткани [6].

Анализ молекулярных и клеточных процессов, запускаемых при коммуникации через ЩК, необходим для понимания фундаментальных принципов поддержания тканевого гомеостаза, а также для прикладных исследований в области тканевой инженерии и регенеративной медицины.

Структура щелевых контактов

Щелевые контакты (ЩК) – это высокоспециализированные трансмембранные структуры, обеспечивающие коммуникацию между клетками напрямую, минуя межклеточное пространство, которые играют существенную роль в регуляции тканевого гомеостаза. Они представляют собой белковые каналы диаметром 16–20 Å и образованы симметричными мембранными структурами двух соседних клеток – коннексонами. Клетки способны к образованию, как гомоклеточных (между собой), так и гетероклеточных

(клетки разного типа) ЩК (рис. 1, *А*). Шесть белковых коннексиновых субъединиц, сгруппированных вокруг гидрофильной поры, пронизывающей мембрану, образуют коннексоны (рис. 1, *Б*). Два полуканала соседних клеток, расположенные друг против друга, соединяются и образуют непрерывный межклеточный канал. Коннексины (Сх) являются высоко консервативными белками как структурно, так и топологически. Они состоят из четырех трансмембранных доменов (M1, M2, M3 и M4), одной внутриклеточной петли (CL) и двух внеклеточных петель (E1 и E2); как N-, так и C-концы являются цитоплазматическими (рис. 1, *Б*) [7]. Коннексины – нестабильные белки, живущие несколько часов. Комплексное семейство генов Сх у человека включает 21 изоформу, 19 из них являются ортологичными парами. Многие клетки имеют несколько типов коннексинов, например, кератиноциты экспрессируют Сх26, Сх30, Сх30.3, Сх31, Сх31.1 и Сх43; гепатоциты – Сх26 и Сх32, клетки стромального дифферона, к которым относятся и МСК – Сх40, Сх43, Сх45, Сх46 [8–10]. Особое внимание привлекает Сх43, так как он наиболее высоко экспрессируется многими клетками иммунной системы, эндотелиоцитами и периэндотелиальными клетками. Сх43 является основным и наиболее хорошо охарактеризованным среди всех коннексиновых молекул [10, 11].

Каждый из коннексонов состоит либо из коннексинов одного вида – гомотипический вариант, либо из различных коннексинов – гетеротипический вариант. Канал, образованный гомотипическими коннексонами, определяется как

гомомерный, а в случае разных – применим термин гетеромерный канал. Способность к образованию гомомерных или гетеромерных каналов определяет спектр клеток, с которыми возможна коммуникация.

В настоящее время все большее внимание привлекает функциональная активность *Sx43* в структурах, которые называют полуканалами или коннексонами. Эта активность не связана с коммуникацией через ЩК [12–14]. Полуканалы обеспечивают коммуникацию между цитозолем и внеклеточным пространством [15]. В частности, это один из основных механизмов выхода из клетки Ca^{2+} , глутамата, аденозинтрифосфата (АТФ), НАД⁺, простагландинов и др. [16, 17]. Особый интерес представляет участие полуканалов в регуляции в связи с процессом миграции [18]. Показано, что *Sx43*-полуканалы влияют на миграцию, модулируя рецепторный сигналинг, ремоделирование цитоскелета, динамику микротрубочек. Можно предположить, что эти эффекты могут регулироваться через карбоксильный домен молекулы *Sx43*, однако полностью молекулярные механизмы действия полуканалов еще не исследованы [14].

Регуляция работы щелевых контактов

Коммуникация через ЩК контролируется на различных уровнях. Выделяют медленную и быструю регуляцию [19]. Быстрая регуляция включает в себя изменение состояния канала с открытого на закрытое. Медленная – определяется степенью представленности коннексиновых структур на мембранах клеток, скоростью посттрансляционных модификаций, активностью дегградации структур.

Работа ЩК регулируется целым рядом медиаторов, таких как: нейротрансмиттеры, цитокины, факторы роста и другие биологически активные компоненты. Эти молекулы активируют соответствующие киназы, что приводит к изменению уровня фосфорилирования *Sx43*, чем и регулируется открытие/закрытие канала. К основным регуляторным киназам ЩК относятся: протеинкиназа С (PKC), АМР- GMP-зависимые киназы (РКА и PKG), казеин-киназа (СК1), тирозинкиназа *c-Src* и киназы семейства MAPK. Коммуникация через ЩК активирует ERK/PI3K сигнальные каскады, посредством которых регулируется активность многих биологических процессов. Так, TNF- α -стимулированная тирозинкиназа *c-Src*, фосфорилировала *Sx43*, что приводило к быстрому снижению коммуникации через ЩК в эпителии дыхательных путей [20]. TNF- α -индуцированное подавление экспрессии *Sx43* может осуществляться напрямую через модуляцию активности *Sx43* промотора [21]. Недавно было показано, что р38 стресс-активируемые киназы че-

рез PKC могут контролировать закрытие ЩК в астроцитах [22]. EGF и аналогичные лиганд-опосредованные сигнальные каскады, связанные с рецепторными тирозинкиназами, через фосфорилирование *Sx43* транзитивно снижают коммуникацию через ЩК [23, 24]. Другие факторы роста, такие как TGF- β и FGF усиливают коммуникацию благодаря кластеризации коннексиновых каналов с образованием структур, именуемых *Sx43* бляшками. Этот эффект опосредован ERK киназами [25].

К одному из основных регуляторов активности ЩК также относят и уровень pH. В диапазоне от 7.3 до 6.5 ЩК характеризуются неактивным состоянием [26]. Очень важным исключением являются коннексоны с преобладанием *Sx36*, которые, напротив блокируются в щелочной внеклеточной среде с pH > 7.5 [27], что может объяснять их открытое состояние во время развития ишемии.

Кроме того, за модификацию активности ЩК ответственна концентрация внутриклеточного Ca^{2+} , при повышении которой происходит закрытие коннексонов и химическое разъединение контактирующих клеток [28]. При понижении концентрации внеклеточного Ca^{2+} ЩК, напротив, переходят в открытое состояние. Также на статус канала влияет содержание активных форм кислорода вне клетки, повышение концентрации которых способствует открытию ЩК [19]. Мембранный потенциал и химическая регуляция (выброс аденозина), также сказывается на активности ЩК [19].

Функционирование ЩК имеет важное значение для клеточной коммуникации. Цитоплазматический pH, Ca^{2+} , мембранный потенциал, онкогены, нуклеотиды, гормоны, нейротрансмиттеры, липиды, факторы роста и многие экзогенные химические вещества могут регулировать эффективность соединения на разных уровнях, в том числе и транскрипционном, что достигается различными механизмами [29–32].

Роль щелевых контактов в гомо- и гетероклеточных взаимодействиях

Среди различных видов межклеточной коммуникации ЩК являются одними из самых высокотехнологичных по структуре и участвуют в регуляции тканевого гомеостаза как при физиологических, так и при патологических условиях [33–35]. Как уже упоминалось, это единственный вид взаимодействия, который позволяет проводить непосредственный обмен цитоплазматическими компонентами между клетками [36]. Коннексиновые каналы образуют поры, через которые переносятся небольшие молекулы для синхронизации внутриклеточной среды с соседними клетками. Более 35000 молекул могут теоретически

проходить через такие каналы [37]. В частности, перенос внутриклеточных вторичных мессенджеров, включая цАМФ, Ca^{2+} и инозитолтрифосфат, может способствовать регуляции клеточных функций [38]. Было высказано предположение, что межклеточный транспорт Ca^{2+} и высвобождение АТФ участвуют в воспалении, но сигнальные медиаторы, которые проходят через ЩК и активируют воспаление, остаются неидентифицированными. Недавние исследования показали, что некоторые небольшие некодирующие РНК, такие как микроРНК и малые интерферирующие РНК, могут транспортироваться через коннексиновые каналы [39–41].

Эндотелиальные клетки (ЭК) формируют внутреннюю выстилку кровеносных сосудов, обеспечивая двустороннюю избирательную проницаемость для компонентов крови и тканевой жидкости. Эндотелиальный монослой не только участвует в обеспечении физиологического гомеостаза сосудистой сети, но и играет важную роль в регуляции свертывания крови, воспаления, адгезии и экстравазации лейкоцитов и ангиогенезе [42, 43]. ЭК преимущественно экспрессируют *Cx37*, *Cx40* и *Cx43* [44]. Кроме того *in vivo*, с помощью иммуногистохимического анализа было продемонстрировано наличие экспрессии *Cx32* в ЭК из вены крысы [45]. Молекулярно-генетические исследования указывают на участие коннексинов в поддержании барьерной функции эндотелия. Мыши с двойным нокаутом по *Cx37* и *Cx40* умирали в перинатальном периоде и имели выраженные аномалии сосудов, а также очаги массивного кровотечения в желудочно-кишечном тракте, легких и других тканях [46]. В то же время одиночный нокаут по гену *Cx37* или *Cx40* не вызывал таких последствий, вероятно, в силу функционального замещения одного типа коннексина другим [47]. Стоит отметить, что характер экспрессии этих белков зависит от типа сосудов. *Cx37* и *Cx40* коэкспрессируются в ЭК непораженных артерий, тогда как *Cx43* характерно наблюдается в ЭК микроциркуляторного русла и в точках ветвления артерий, подверженных турбулентному кровотоку [47, 48].

ЩК позволяют эндотелиальному монослою осуществлять координированные реакции, запускаемые вторичными посредниками, способствуют быстрому распространению изменений трансмембранного потенциала вдоль эндотелиального пласта. Как указывалось ранее, ионы и малые молекулы могут перемещаться непосредственно через ЩК [49]. Коннексоны двух соседних ЭК формируют гидрофильный канал, через который проходят небольшие сигнальные молекулы, такие как Ca^{2+} , инозитолтрифосфат и др. Низкое электрическое сопротивление этих каналов способствует распространению электриче-

ских токов вдоль клеток. Электрические токи позволяют быстрее передавать сигналы, чем это может быть достигнуто с помощью обмена малых молекул посредством диффузии [49].

Интересно, что изменения в экспрессии коннексинов и наличие ЩК в ЭК тесно связаны с активацией этих клеток при действии провоспалительных стимулов. Действительно, экспозиция ЭК вены пупочного канатика человека (HUVES) с TNF- α приводила к снижению экспрессии *Cx32*, *Cx37* и *Cx40* через 4 ч и *Cx43* – через 24 ч [50]. И наоборот, изменение экспрессии коннексинов может влиять на функции ЭК в физиологических и патологических условиях [45].

Более десяти лет исследований позволили получить доказательства взаимосвязи между эндотелиальными ЩК, коннексинами и ангиогенезом. Установлено, что ЩК и составляющие их белки вносят вклад в такие важные этапы ангиогенеза, как миграция и пролиферация ЭК. Так, в моделях ангиогенеза *in vitro* продемонстрирована необходимость экспрессии эндотелиальных коннексинов для обеспечения ангиогенной активности ЭК. Нокаут *Cx43* с использованием специфических микроРНК приводил к замедлению клеточной пролиферации и миграции ЭК аорты человека [51]. Снижение уровня *Cx43* способствовало увеличению концентрации ангиогенных факторов, таких как ингибитор урокиназы PAI-1 и VWF [52, 53]. Также было показано, что нокаут *Cx37*, *Cx40* или *Cx43* с использованием малых интерферирующих РНК подавлял ангиогенез, включая ветвление и образование сосудистой сети в матригеле [54]. Такие исследования дают основания полагать, что эндотелиальные коннексины могут прямо и/или косвенно способствовать ангиогенезу посредством модификации функций ЭК. Хотя эти исследования представили обширные доказательства того, что экспрессия эндотелиальных коннексинов модулирует ангиогенез, специфическое влияние каждого *Cx* на процесс формирования новых сосудов остается неясным. Считается, что экспрессия любого эндотелиального *Cx* может модифицировать экспрессию других коннексинов [55]. Действительно, микроРНК *Cx43* индуцировали повышенную экспрессию как *Cx37*, так и *Cx40* в ЭК аорты. В HUVES микроРНК *Cx43* не изменял экспрессию других *Cx*, тогда как микроРНК *Cx40* и микроРНК *Cx37* снижали экспрессию *Cx43* и *Cx40* соответственно [55].

Клетки стромального дифферона. Гетерогенная популяция стромальных предшественников и их дифференцированных потомков, представляющая стромальный дифферон, играет фундаментальную роль в обеспечении физиологии и регенерации тканей [56–58]. Среди основных функций малокоммитированных клеток стромального

дифферона наиболее востребованными считаются способность к длительному поддержанию некоммутированного статуса в локальных тканевых депо, мобилизации и миграции при действии соответствующих стимулов, мультилинейной дифференцировке и продукции паракринных медиаторов. Реализация функций этих клеток определяется как спецификой внеклеточного микроокружения, так и различными гомо- и гетероклеточными коммуникациями.

В настоящее время возможность гомоклеточного взаимодействия через ЩК продемонстрирована как для примитивных и коммутированных предшественников, так и дифференцированных стромальных клеток: МСК, периваскулярных клеток, фибробластов, ГМК, остеобластов и остеоцитов, хондробластов и хондроцитов [59].

Наиболее детально ЩК между клетками стромального дифферона исследованы в сосудистой стенке. Так, *A.C. Brisset et al.* [60] показали, что в стенке сосуда через ЩК взаимодействуют различные типы клеток, в том числе ГМК и менее коммутированные периваскулярные стромальные клетки.

В капиллярном русле стромальный компонент представлен малокоммутированными клетками, которые в связи с их положением в непосредственной близости к эндотелиальному монослою, называют периэндотелиальными, периваскулярными или перицитами. Пул перицитов — один из наиболее достоверных экспериментально подтвержденных источников МСК [61]. Перициты микроциркуляторного русла активно вовлечены в поддержание физиологического гомеостаза и ответ на повреждение различных тканей. Считается, что они вносят существенный вклад в обеспечение гемато-энцефалического барьера, как в центральной, так и в периферической нервной системе [62]. Это обеспечивается формированием этими клетками функционального синцития за счет высокоспециализированных межклеточных соединений, таких как ЩК. Кроме того, перициты играют важную роль в регуляции сосудистого тонуса, в том числе и за счет коммуникации через ЩК [63]. Так, в работе *E. Ivanova et al.* [64] на тотальных препаратах сетчатки диабетических мышечей было показано существенное снижение экспрессии Сх43, что сопровождалось нарушением вазоактивного ответа. Использование селективных ингибиторов ЩК показало, что блокада этих структур влияла на распространение вазомоторного стимула, но не инициацию ответа на него. Авторы предположили, что нарушение интегрированности Сх43-содержащих ЩК и снижение плотности перицитов могут вносить существенный вклад в развитие вазомоторного дефицита при диабете [64].

Многочисленные исследования как интактных сосудов *in vivo*, так и эксперименты *in vitro* показали наличие в ГМК четырех коннексиновых белков: Сх37, Сх40, Сх45 и наиболее представленного Сх43 [65]. Эти коннексины входят в состав многочисленных каналов ГМК-ГМК, формируя гомо- и гетеромерные структуры. Предполагается, что ЩК обеспечивают поддержание потенциала покоя, важного фактора реактивности гладких мышц [66]. Кроме того, с помощью таких контактов осуществляется быстрая передача электрического потенциала, обеспечивающая скоординированную работу гладких мышц как функционального синцития.

Присутствие коннексинов в ГМК продемонстрировано во всех участках сосудистого русла, причем они распределены неравномерно. Плотность специализированных коннексиновых бляшек, объединяющих десятки и сотни Сх каналов увеличивается к периферии сосудистой сети. Например, в брыжжейке крыс экспрессия Сх43 в артериолах третьего порядка выше, чем первого [67].

ЩК и входящие в их состав коннексины очень пластичные структуры. Количество и работоспособность каналов регулируется различного рода сигналами. Известно, что гипертензия может стимулировать экспрессию Сх43 и активность ЩК [67], тогда как гипоксия, напротив, вызывает разобщение этих соединений [67]. Фармакологические ингибиторы ЩК снижают сократительный ответ артерий различного калибра на вазоконстрикторы, такие как фенилэфрин, эндотелин-1, серотонин [68, 69].

Для еще одного типа дифференцированных стромальных клеток — хондроцитов, в хрящах суставов продемонстрирована экспрессия Сх43, Сх45, Сх32, Сх46. В поверхностных участках эти клетки с помощью отростков образуют функциональный синцитий для межклеточной коммуникации [70]. При культивировании такие хондроциты сохраняли способность формировать потенциал-зависимые ЩК [71]. В результате развития остеоартрита обнаружено существенное снижение регулярности коннексиновых структур, связанной со снижением их количества в поврежденных участках и повышением — в областях неповрежденного хряща [71].

Для МСК человека показана экспрессия Сх40, Сх43 и Сх45, которые формируют функциональные гомо- и гетероклеточные щелевые соединения [11]. Согласно имеющимся литературным данным, Сх43 и образуемые им ЩК вовлечены в регуляцию целого ряда биологических процессов, происходящих с МСК во время физиологического и репаративного моделирования. Исследования *in vitro* дали возможность проанализировать ЩК-опосредованные механизмы регуляции различных функций стромальных предшествен-

ников. Установлено, что высокая степень контактной коммуникации необходима для начала адипо- и остеиндукции в МСК [72, 73]. Оверэкспрессия *Sx43* также способствовала остеодифференцировке МСК, как при 2D-, так и 3D-культивировании [73]. В остеобластах показано увеличение экспрессии *Sx43* при действии остеиндукторов [74]. Блокирование ЩК в стромальных предшественниках приводило к замедлению минерализации матрикса [74] и снижению продукции хондрогенных компонентов [75]. Интересно, что в адиподифференцированных МСК коммуникация через ЩК снижалась [72]. Можно предположить, что такой способ контактов необходим на ранних этапах коммитирования, тогда как в дифференцированных стромальных клетках более востребованы другие механизмы межклеточных взаимодействий.

Известно, что ЩК играют важную роль в регуляции миграции различных клеток в области повреждения. Большая часть имеющихся на сегодняшний день данных получена в экспериментах с фибробластами. Было показано, что уровень экспрессии и фосфорилирования *Sx43* в фибробластах снижался после нанесения раны, что приводило к увеличению пролиферации и миграции клеток как *in vivo* и *in vitro* [76]. Кроме того, было отмечено снижение уровня МСР-1 и увеличение продукции коллагенов I и III, MMP, VEGF, TGF β [77]. Gap27-опосредованное подавление *Sx43* вызывало снижение коммуникации через ЩК в фибробластах. Это приводило к стимуляции миграции и изменению профиля транскрипции генов, ассоциированных с репарацией тканей. Гены связанные с ремоделированием матрикса (*MMPs* и TGF- β 1) и проангиогенный VEGF-A увеличивали экспрессию. Гены, молекулы которых ассоциированы с фиброзом, такие как проколлаген типа I, сократительные белки, были ингибированы. Эти изменения были опосредованы ERK1/2, GSK3 α/β и TGF- β сигнальными путями и AP1, SP1 транскрипционными факторами [78]. Считается, что *Sx43* может выступать в роли регулятора морфологии, полярности, образования отростков, подвижности и направленной миграции [79]. Все эти процессы связаны с интенсивной реорганизацией цитоскелета. *Sx43* за счет своего цитоплазматического домена может выступать как адапторный белок для обеспечения нуклеации цитоскелет-ассоциированных белков, которые регулируют актиновый и тубулиновый комплексы. Подавление экспрессии *Sx43* приводит к нарушению способности клетки к направленной миграции [79].

Нарушение коммуникации через ЩК в сосудистой сети ассоциировано с риском развития таких осложнений, как дислипидемия и атеросклероз, артериальная гипертензия, аритмия, нефро- и ретинопатия, демиелинизирующие

нейродегенеративные, кожные и другие заболевания, связанные с патологическим ангиогенезом [80]. Причем основное значение в генезе микроциркуляторных нарушений, согласно литературным данным, имеет *Sx43*, при этом негативную роль в патологических и восстановительных процессах может играть как снижение, так и увеличение экспрессии этого белка [81].

Sx43 играет центральную роль в реакции заживления ран [76, 82]. Было установлено, что в активно мигрирующих кератиноцитах на краях экспериментальной раны уровень *Sx43* снижен в первые 24–48 ч [83]. При нанесении на рану антисмыслового конструктора *Sx43*, миграция кератиноцитов дополнительно стимулировалась [76]. Напротив, при диабете наблюдали подавление миграции кератиноцитов после нанесения раны и увеличение продукции *Sx43*. Стимуляция миграции наблюдалась только после подавления экспрессии *Sx43* [84]. *Sx43* был обнаружен в биопсиях девяти смешанных и двух диабетических язв нижних конечностей [85]. Предполагается, что аномальная экспрессия белка *Sx43* может частично лежать в основе медленного заживления, наблюдаемого при диабетических язвах кожи. Следует отметить, что восстановление нормальной скорости миграции кератиноцитов при диабете может быть достигнуто путем применения антисмысловых *Sx43* кодонов, которое предотвращает аномальное повышение продукции *Sx43* [84].

Неспособность фибробластов мигрировать в раневое ложе и формировать новую грануляционную ткань при заживлении хронических диабетических ран также является серьезной проблемой [86]. Сообщалось, что экспрессия *Sx43* в фибробластах краев ран человека и диабетической крысы была значительно повышена, также как и в интактной дерме диабетической крысы, где межклеточная коммуникация также была увеличена [84]. В фибробластах пациента с диабетом наблюдалось значительное 10-кратное повышение уровня белка *Sx43*, а также 6-кратное увеличение N-кадгерина по сравнению с неповрежденной кожей. У диабетических крыс обнаружено, что *Sx43* повышался в интактных дермальных фибробластах прямо пропорционально уровню глюкозы в крови и увеличивался еще значительнее в ответ на повреждение кожи [84]. Сообщалось также, что фибробласты от диабетических пациентов имели повышенную коммуникацию через ЩК и замедленную пролиферацию [87]. В клетках раны здоровых пациентов экспрессия *Sx43* снижена, что может быть навигатором для регулирования миграции клеток и заживления.

Как было сказано ранее, стромальные клетки, в том числе и МСК, способны к образованию не только гомоклеточных, но и гетероклеточных

ЩК. Установлено, что эффективность коммуникации через ЩК влияет на способность МСК поддерживать гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) [88]. Адгезия и поддержание некоммитированного состояния ГСК улучшались при увеличении степени контактной коммуникации между МСК, в том числе и за счет возрастания продукции функционально активного CXCL12 [88]. За счет ЩК-коммуникации стромальных клеток различной степени коммитированности с ЭК формируется “информационная” сеть для поддержания синхронизации электрической, механической и метаболической активности, что имеет большое значение, как для ангиогенеза, так и для остеогенеза.

Взаимодействие эндотелиальных и стромальных клеток: вклад контактных механизмов. В настоящее время с помощью морфологических и молекулярно-биологических методов убедительно продемонстрировано наличие ЩК между разными типами клеток в микро- и макрососудистом русле *in situ* [89]. На основании этих наблюдений высказано предположение, что межклеточная коммуникация через ЩК между стромальными клетками и/или ЭК опосредует распространение вазомоторного сигнала вдоль артериальной стенки при локальной стимуляции [89]. Одним из выводов из такого предположения является то, что межклеточный перенос через ЩК может быть механизмом, с помощью которого, например, локально вызванные вазодилаторные ответы могут проводиться проксимально (т.е. выше от места стимуляции) в питающую артериолу, чтобы вызвать усиление кровотока в стимулированном сосуде и, таким образом, увеличить перфузию более дистального капиллярного русла [89]. *B.R. Duling* и *R.M. Berne* предположили, что такие вазомоторные реакции могут играть важную роль в локальном контроле тканевого кровотока, а коммуникация через гомо- и гетероклеточные ЩК является одним из механизмов координации локальных гемодинамических реакций [90].

Возможно, наиболее убедительные доказательства роли ЩК в физиологии и функционировании тканей человека, были получены в исследованиях, проведенных на изолированных сосудах из пещеристого тела [91]. В этих исследованиях обработка сосудов гептанолом вызывала существенное и легко обратимое снижение скорости и величины сокращений, опосредованных $\alpha 1$ -адренергическими рецепторами, при отсутствии каких-либо обнаруживаемых нефункциональных эффектов. Авторы предположили, что в такой ткани с незначительной автономной иннервацией и способностью к ответу на электрическую стимуляцию, коммуникация через ЩК может быть основным механизмом обеспечения координации реакций релаксации и сокращения ГМК [91]. Приведенные данные показывают, что реакции

сокращения/релаксации в изолированных сосудистых тканях модулируются, по крайней мере, частично межклеточной связью через ЩК.

В отличие от экспериментально подтвержденного участия ЩК в динамической координации вазомоторных сигналов в микроциркуляторном русле, участие этих структур в регуляции сосудистого тонуса в более крупных артериях не так очевидно. Предполагается, что в таких сосудах ЩК могут осуществлять интеграцию сигналов между нервными окончаниями, ЭК и ГМК. Возможно, что такой механизм имеет важное значение, для модуляции гомеостаза промежуточного медиального слоя артерий, особенно в сосудах с более чем несколькими слоями ГМК.

Доказательства метаболической связи между клетками сосудистой стенки *in situ* получены в экспериментах с использованием флуоресцентных красителей, специфически перетекающих из клетки в клетку только через ЩК. Гомо- и гетероклеточный перенос красителей после инъекции в артериолы щечного мешка хомячка блокировался с помощью ингибиторов ЩК, таких как гептанол. Причем в случае гетероклеточных контактов перенос был односторонним от ЭК к ГМК, что может иметь важные последствия для межклеточной сигнализации в стенке сосуда [92].

Значительный прогресс в исследовании ЩК в регуляции взаимодействия ЭК и стромальных клеток был достигнут, благодаря экспериментам *in vitro*.

ЭК, как основной компонент кровеносных сосудов, способны при культивировании образовывать трубчатые структуры, однако они не могут независимо формировать функциональную сосудистую сеть, поддерживающую кровоток [93]. Это требует участия других компонентов, включая поддержку периваскулярных клеток и внеклеточного матрикса. В настоящее время ни у кого не вызывает сомнения, что, по крайней мере, часть перицитов обладают свойствами МСК [61], а периэндотелиальная область сосудов является одним из основных локальных депо малокоммитированных стромальных предшественников. Взаимодействие ЭК и МСК играет важную роль в поддержании гомеостаза и ремоделировании сосудистой стенки. Взаиморегуляция этих клеток может происходить как паракринно, так и за счет прямых контактов, в том числе и через ЩК.

В одном из недавних исследований *D. Steiner et al.* [94] наблюдали увеличение пролиферации МСК, а также остеобластов при паракринном и прямом контактах с ЭК вены пупочного канатика человека (HUVES). Было показано, что эффект HUVES на пролиферацию МСК был гораздо более выражен, когда клетки взаимодействовали напрямую. Это позволило предположить, что гетеротипические клеточные контакты и/или вне-

клеточный матрикс, продуцируемый эндотелиальными клетками, обеспечивали дополнительный стимул для пролиферации МСК [94].

Согласно данным *J. Li et al.*, культивируемые HUVES стимулировали функциональную, в том числе и ангиогенную активность МСК [95]. При этом более выраженные эффекты наблюдались при наличии прямых клеточных контактов. Была выявлена индукция синтеза IL-1 β или IL-6 в МСК, вызванная непосредственно прямым контактом с HUVES [95]. Эти два интерлейкина аутокринно активировали NF- κ B сигнальный путь в МСК, что усиливало продукцию ангиогенных цитокинов этими клетками, а также увеличивало их коммитирование в гладкомышечном направлении.

Эти результаты индуцировали дополнительные исследования функциональной значимости гетеротипических клеточных контактов, в том числе и ЩК, образованных при взаимодействии МСК и HUVES. Так *L. De Moor et al.* продемонстрировали, что HUVES могут образовывать жизнеспособные и стабильные сфероиды при сокультивировании с МСК в соотношении 1 : 9 [96]. При увеличении доли ЭК агрегация ухудшалась, а при преобладании ЭК сфероиды не образовывались [97]. Равное соотношение ЭК/МСК при совместном культивировании являлось наилучшей комбинацией для индукции ангиогенеза [97].

Как уже упоминалось, высокоспециализированные контакты, возникающие при прямом взаимодействии клеток, играют важную роль в регуляции тканевого гомеостаза и ремоделировании тканей. Анализ механизмов, вовлеченных в реализацию прямых межклеточных коммуникаций между ЭК и клетками стромального дифферона, показал возможность образования гетероклеточной сети за счет ЩК [98]. Так, было продемонстрировано, что секретируемые растворимых факторов, таких как VEGF, зависит от коммуникации через ЩК [99]. Кроме того, оказалось, что ЩК могут участвовать и в таком феномене, как перенос митохондрий. В последнее десятилетие наблюдается увеличение исследований, в которых транспорт митохондрий между клетками рассматривается как один из новых механизмов, посредством которого МСК могут участвовать в восстановлении поврежденных клеток. Показано, что в митохондриальный перенос вовлечены различные пути, которые включают формирование туннельных нанотрубок (TNT), образование микровезикул, слияние клеток и другие способы переноса, в том числе и ЩК. В модели острого повреждения легких у мышей *in vivo* было установлено, что перенос митохондрий в основном опосредовался формированием TNT и микровезикул, но при этом также наблюдалось и повышение экспрессии *Cx43* [100]. *K.A. Sinclair et al.* оха-

рактеризовали и сравнили различные способы переноса митохондрий от разных типов МСК к эпителиальным клеткам бронхов [101]. Полное прекращение митохондриального переноса наблюдалось путем блокирования образования TNT цитохалазином В и ингибирования микровезикул диназором [101]. При ингибировании *Cx43*, также наблюдалось заметное, хоть и неполное ослабление митохондриального переноса [101].

Взаимодействие ЭК и стромальных клеток не ограничивается только сосудистым руслом. Известно, что ЭК сосудов могут быть участниками сложной коммуникационной сети, возникающей в результате взаимодействий между остеобластами и другими типами клеток, присутствующими в костном микроокружении, что определяет гомеостаз и ремоделирование костной ткани [102, 103].

При изучении гетероклеточных ЭК-МСК сокультур было обнаружено, что происходит не только формирование стабильных капиллярных сетей, но и образование остеогенных структур, свидетельствующих о ЭК-индуцированном остеогенном коммитировании МСК [97, 104]. В исследовании *F. Villars et al.* показано, что остеогенная дифференцировка МСК значительно усиливалась, когда МСК и HUVES находились в прямом контакте, что подтверждалось увеличением экспрессии маркеров остеобластической дифференцировки щелочной фосфатазы и коллагена I типа [105]. Поскольку между стромальными клетками из костного мозга и ЭК при контактном сокультивировании формировались ЩК, это позволило предположить участие ЩК в ЭК-индуцированном остеоккоммитировании. Также было показано, что ингибирование *Cx43* в монокультуре МСК значительно снижало экспрессию *Runx2* [105]. В исследовании *B. Guillotin et al.*, при кратковременном взаимодействии МСК и HUVES в течение 48 ч для стимуляции активности щелочной фосфатазы был необходим синтез *Cx43* [106]. *A.D.P.E. Herzog et al.* установили, что остеогенная дифференцировка остеобластов стимулировалась через формирование *Cx43*-ЩК [107]. Было высказано предположение, что этот эффект может быть связан с повышением транскрипции *VEGF-A* [107]. В этой же работе была продемонстрирована корреляция между коммуникацией через ЩК и экспрессией *VEGF-A* и *CXCL19*, продукты которых участвуют в усилении остеогенного коммитирования стромальных предшественников [107].

Функциональное ингибирование ЩК 18 α -глицирретиновой кислотой или путем подавления синтеза *Cx43* олигодезоксирибонуклеотидом ослабляло влияние HUVES на остеогенную дифференцировку МСК [108]. Было сделано предположение, что трансмембранные *Cx43* необходимы для стимуляции транскрипции *ALP* [108]. Однако в исследовании *B. Guillotin et al.* выявлено сниже-

ние содержания Sx43 с одновременным увеличением экспрессии *ALP* в сокультуре HUVES с остеопрогениторными клетками [106]. Эти результаты противоречат гипотезе о роли Sx43 в экспрессии маркеров остеобластов. В связи с этим авторы предположили, что снижение содержания белка Sx43 в остеобластах, в результате сокультивирования с ЭК, может не влиять на эффективность стимуляции *ALP*, благодаря увеличению активности коммуникации через ЩК [108].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Взаимодействие стромальных и эндотелиальных клеток лежит в основе тканевого гомеостаза различных тканей и органов. Как свидетельствуют многочисленные экспериментальные данные, приведенные в настоящей работе, высокоспециализированные межклеточные соединения – ЩК, обеспечивают формирование гомоклеточных функциональных синктиев. В таких надклеточных кооперациях клетки стромального дифферона, такие как перциты и ГМК, а также ЭК скоординировано отвечают на внешние стимулы. Кроме того, между этими клетками возможно создание и гетероклеточных коопераций. Такие взаимодействия особенно востребованы для проведения сигналов, регулирующих сокращение сосудистой стенки. Прямые гомо- и гетероклеточные связи через межклеточные каналы играют важную роль, как в физиологических, так и в патологических процессах. Высокий уровень коммуникации через ЩК необходим для остеодифференцировки МСК. Формирующиеся при этом ранние остеопрогениторные клетки обладают более высокой стромальной активностью, поддерживая некоммитированные ГСК. Блокирование ЩК приводит к замедлению пролиферации и миграции клеток, что может негативно отражаться на тканевом гомеостазе, в частности, заживлении ран.

В настоящее время все больший интерес вызывает метаболическая кооперация клеток через ЩК. Контроль такого рода взаимодействий востребован в области сердечно-сосудистых заболеваний, ремоделирования тканей, воспаления, доброкачественных и злокачественных новообразований и др. Можно предположить, что блокировка ЩК между ЭК и стромальными клетками во время ранней ишемии может предотвратить расширение ишемической зоны, а контроль открытия/закрытия канала – помочь контролировать сосудистую функцию, что, возможно, будет играть важную роль в предотвращении спазма сосудов. Кроме того, поскольку недавно было показано, что ЩК играют роль в воспалительных реакциях, можно предположить возможность модуляции этого процесса через регуляцию ЩК.

Без сомнения, эффективность коммуникации через ЩК определяется не только участвующими

в них клетками, но и локальным микроокружением. Уровень O_2 представляет один из наиболее значимых факторов, определяющих тканевой гомеостаз. На данный момент нет данных о связи между уровнем O_2 и гетероклеточными коммуникациями ЭК и клеток стромального дифферона. Кроме того, практически отсутствует информация о роли воспалительных медиаторов в регуляции таких ЩК. Особый интерес представляет пока малоизученная область, связанная с эффектами внеклеточного матрикса на активность ЩК. Дальнейшие исследования, направленные на изучение аспектов, определяющих вклад факторов микроокружения в регуляцию гетероклеточной коммуникации через ЩК, необходимы для более глубокого понимания роли клеточных коопераций в поддержании физиологического гомеостаза. Кроме того, такие данные будут востребованы для разработки эффективных моделей *in vitro* для скрининга лекарственных препаратов и совершенствования подходов в тканевой инженерии и регенеративной медицине для предотвращения патологических изменений, связанных с ангиогенезом, и улучшения эффектов заместительной клеточной терапии.

Финансирование работы. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00075 и при поддержке Гранта Президента РФ МК-808.2020.4

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Крутовских В.А. Роль нарушений межклеточных щелевых контактов в генезе рака и других петологических состояний // Архив патологии. 2000. Т. 61. № 1. С. 3.
Krutovskikh V.A. Role of intercellular gap junction contacts in genesis of cancer and other pathological conditions // Arkh. Patol. 2000. V. 62. № 1. P. 3.
2. Kumar N.M., Gilula N.B. The gap junction communication channel // Cell. 1996. V. 84. № 3. P. 381.
3. Willecke K., Eiberger J., Degen J. et al. Structural and functional diversity of connexin genes in the mouse and human genome // Biol. Chem. 2002. V. 383. № 5. P. 725.
4. Caplan A.I., Bruder S.P. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century // Trends Mol. Med. 2001. V. 7. № 6. P. 259.
5. Калинина Н.И., Сысоева В.Ю., Рубина К.А. и др. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей // Acta Naturae. 2011. Т. 3. № 4. С. 32.
Kalinina N.I., Sysoeva V.Y., Rubina K.A. et al. Mesenchymal stem cells in tissue growth and repair // Acta Naturae. 2011. V. 3. № 4. P. 30.
6. Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Сахно Л.В. и др. Влияние секреторных факторов эндотелиальных

- клеток на пролиферативную и миграционную способность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека // *Фундаментальные исследования*. 2014. Т. 2. № 4. С. 296.
7. *Goodenough D.A., Paul D.L.* Beyond the gap: functions of unpaired connexon channels // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003. V. 4. № 4. P. 285.
 8. *Cottrell G.T., Burt J.M.* Functional consequences of heterogeneous gap junction channel formation and its influence in health and disease // *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembranes*. 2005. V. 1711. № 2. P. 126.
 9. *Valiunas V., Doronin S., Valiuniene L. et al.* Human mesenchymal stem cells make cardiac connexins and form functional gap junctions // *J. Physiol.* 2004. V. 555. № 3. P. 617.
 10. *Batra N., Kar R., Jiang J.X.* Gap junctions and hemichannels in signal transmission, function and development of bone // *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2012. V. 1818. № 8. P. 1909.
 11. *Genet N., Bhatt N., Bourdieu A. et al.* Multifaceted roles of connexin 43 in stem cell niches // *Curr. Stem Cell Rep.* 2018. V. 4. № 1. P. 1.
 12. *Wang D.G., Zhang F.X., Chen M.L. et al.* Cx43 in mesenchymal stem cells promotes angiogenesis of the infarcted heart independent of gap junctions // *Mol. Med. Rep.* 2014. V. 9. № 4. P. 1095.
 13. *Li K., Chi Y., Gao K. et al.* Connexin43 hemichannel-mediated regulation of connexin43 // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 2. P. e58057.
 14. *Kameritsch P., Pogoda K., Pohl U.* Channel-independent influence of connexin 43 on cell migration // *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2012. V. 1818. № 8. P. 1993.
 15. *Stains J. P., Civitelli R.* Gap junctions in skeletal development and function // *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2005. V. 1719. № 1–2. P. 69.
 16. *Eugenin E.A., Basilio D., Sáez J.C. et al.* The role of gap junction channels during physiologic and pathologic conditions of the human central nervous system // *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2012. V. 7. № 3. P. 499.
 17. *Plotkin L.I.* Connexin 43 hemichannels and intracellular signaling in bone cells // *Front. Physiol.* 2014. V. 5. P. 131.
 18. *Defranco B.H., Nickel B.M., Baty C.J. et al.* Migrating cells retain gap junction plaque structure and function // *Cell Commun. Adhes.* 2008. V. 15. № 3. P. 273.
 19. *Goodenough D.A., Paul D.L.* Gap junctions // *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* 2009. V. 1. № 1. P. a002576.
 20. *Huang S.L., Hsu M.K., Chan C.C.* Effects of submicrometer particle compositions on cytokine production and lipid peroxidation of human bronchial epithelial cells // *Environ. Health Perspect.* 2003. V. 111. № 4. P. 478.
 21. *Fernandez-Cobo M., Gingalewski C., Drujan D. et al.* Downregulation of connexin 43 gene expression in rat heart during inflammation. The role of tumour necrosis factor // *Cytokine*. 1999. V. 11. № 3. P. 216.
 22. *Zvalova D., Cordier J., Mesnil M. et al.* p38/SAPK2 controls gap junction closure in astrocytes // *Glia*. 2004. V. 46. № 3. P. 323.
 23. *Hossain M.Z., Boynton A.L.* Regulation of Cx43 gap junctions: the gatekeeper and the password // *Sci. STKE*. 2000. V. 2000. № 54. P. pe1.
 24. *Lampe P.D., TenBroek E.M., Burt J.M. et al.* Phosphorylation of connexin43 on serine368 by protein kinase C regulates gap junctional communication // *J. Cell Biol.* 2000. V. 149. № 7. P. 1503.
 25. *Le A.C.N., Musil L.S.* A novel role for FGF and extracellular signal-regulated kinase in gap junction-mediated intercellular communication in the lens // *J. Cell Biol.* 2001. V. 154. № 1. P. 197.
 26. *Schweitzer J.S., Wang H., Xiong Z.Q. et al.* pH Sensitivity of non-synaptic field bursts in the dentate gyrus // *J. Neurophysiol.* 2000. V. 84. № 2. P. 927.
 27. *González-Nieto D., Gómez-Hernández J.M., Larrosa B. et al.* Regulation of neuronal connexin-36 channels by pH // *Proc. Natl Acad. Sci.* 2008. V. 105. № 44. P. 17169.
 28. *Connors B.W., Long M.A.* Electrical synapses in the mammalian brain // *Annu. Rev. Neurosci.* 2004. V. 27. P. 393.
 29. *Rimkute L., Kraujalis T., Snipas M. et al.* Modulation of connexin-36 gap junction channels by intracellular pH and magnesium ions // *Front. Physiol.* 2018. V. 9. P. 362.
 30. *Abed A., Toubas J., Kavvadas P. et al.* Targeting connexin 43 protects against the progression of experimental chronic kidney disease in mice // *Kidney Int.* 2014. V. 86. № 4. P. 768.
 31. *Tsang H., Leiper J., Lao K.H. et al.* Role of asymmetric methylarginine and connexin 43 in the regulation of pulmonary endothelial function // *Pulm. Circ.* 2013. V. 3. № 3. P. 675.
 32. *Lu W.H., Hsieh K.S., Lu P.J. et al.* Different impacts of α - and β -blockers in neurogenic hypertension produced by brainstem lesions in rat // *Anesthesiology*: *J. Am. Soc. Anesthesiol.* 2014. V. 120. № 5. P. 1192.
 33. *Leybaert L., Lampe P.D., Dhein S. et al.* Connexins in cardiovascular and neurovascular health and disease: pharmacological implications // *Pharmacol. Rev.* 2017. V. 69. № 4. P. 396.
 34. *Aasen T.* Connexins: junctional and non-junctional modulators of proliferation // *Cell Tissue Res.* 2015. V. 360. № 3. P. 685.
 35. *Vinken M.* Introduction: connexins, pannexins and their channels as gatekeepers of organ physiology // *Cell. Mol. Life Sci.* 2015. V. 72. № 15. P. 2775.
 36. *Aasen T., Johnstone S., Vidal-Brime L. et al.* Connexins: synthesis, post-translational modifications, and trafficking in health and disease // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 5. P. 1296.
 37. *Esseltine J.L., Laird D.W.* Next-generation connexin and pannexin cell biology // *Trends Cell Biol.* 2016. V. 26. № 12. P. 944.
 38. *Hernandez V.H., Bortolozzi M., Pertegato V. et al.* Unitary permeability of gap junction channels to second messengers measured by FRET microscopy // *Nat. Methods*. 2007. V. 4. № 4. P. 353.
 39. *Hong X., Sin W.C., Harris A.L. et al.* Gap junctions modulate glioma invasion by direct transfer of microRNA // *Oncotarget*. 2015. V. 6. № 17. P. 15566.

40. Lemcke H., Steinhoff G., David R. Gap junctional shuttling of miRNA—A novel pathway of intercellular gene regulation and its prospects in clinical application // *Cell. Signal.* 2015. V. 27. № 12. P. 2506.
41. Brink P.R., Valiunas V., Gordon C. et al. Can gap junctions deliver? // *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembranes.* 2012. V. 1818. № 8. P. 2076.
42. Godo S., Shimokawa H. Endothelial functions // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2017. V. 37. № 9. P. e108.
43. Reglero-Real N., Marcos-Ramiro B., Millán J. Endothelial membrane reorganization during leukocyte extravasation // *Cell. Mol. Life Sci.* 2012. V. 69. № 18. P. 3079.
44. Larson D.M., Haudenschild C.C., Beyer E.C. Gap junction messenger RNA expression by vascular wall cells // *Circ Res.* 1990. V. 66. № 4. P. 1074.
45. Okamoto T., Akiyama M., Takeda M. et al. Connexin32 is expressed in vascular endothelial cells and participates in gap-junction intercellular communication // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009. V. 382. P. 264.
46. Simon A.M., McWhorter A.R. Vascular abnormalities in mice lacking the endothelial gap junction proteins connexin37 and connexin40 // *Dev. Biol.* 2002. V. 251. № 2. P. 206.
47. Inai T., Shibata Y. Heterogeneous expression of endothelial connexin (Cx) 37, Cx40, and Cx43 in rat large veins // *Anat. Sci. Int.* 2009. V. 84. № 3. P. 237.
48. Ebong E.E., Kim S., DePaola N. Flow regulates intercellular communication in HAEC by assembling functional Cx40 and Cx37 gap junctional channels // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006. V. 290. № 5. P. H2015.
49. Аппукуттан Ш., Манчанда Р. Независимость скорости распространения потенциала действия от взаимосвязи между трансконтактной разностью потенциалов и подтипом щелевого контакта // *Сибирский научный медицинский журнал.* 2016. Т. 36. № 1. С. 80.
Appukuttan S., Manchanda R. Independence of AP propagation velocity to transjunctional voltage dependence of gap junctional coupling / 2015 International Conference on Biomedical Engineering and Computational Technologies (SIBIRCON). 28–30 Oct. 2015. P. 160.
50. van Rijen H.V.M., van Kempen M.J., Postma S. et al. Tumour necrosis factor α alters the expression of connexin43, connexin40, and connexin37, in human umbilical vein endothelial cells // *Cytokine.* 1998. V. 10. № 4. P. 258.
51. Wang H.H., Kung C.I., Tseng Y.Y. et al. Activation of endothelial cells to pathological status by down-regulation of connexin43 // *Cardiovasc. Res.* 2008. V. 79. № 3. P. 509.
52. Bacharach E., Itin A., Keshet E. In vivo patterns of expression of urokinase and its inhibitor PAI-1 suggest a concerted role in regulating physiological angiogenesis // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1992. V. 89. № 22. P. 10686.
53. Xu H., Cao Y., Yang X. et al. ADAMTS13 controls vascular remodeling by modifying VWF reactivity during stroke recovery // *Blood.* 2017. V. 130. № 1. P. 11.
54. Gärtner C., Ziegelhöffner B., Kostelka M. et al. Knock-down of endothelial connexins impairs angiogenesis // *Pharmacol. Res.* 2012. V. 65. № 3. P. 347.
55. Kizana E., Cingolani E., Marban E. Non-cell-autonomous effects of vector-expressed regulatory RNAs in mammalian heart cells // *Gene Therapy.* 2009. V. 16. № 9. P. 1163.
56. Буравкова Л.Б., Андреева Е.Р., Григорьев А.И. Роль кислорода как физиологического фактора в проявлении функциональных свойств мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека // *Физиология человека.* 2012. Т. 38. № 4. С. 121.
Buravkova L.B., Andreeva E.R., Grigoriev A.I. The impact of oxygen in physiological regulation of human multipotent mesenchymal cell functions // *Human Physiology.* 2012. V. 38. № 4. P. 444.
57. Murphy M.B., Moncivais K., Caplan A.I. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine // *Exp. Mol. Med.* 2013. V. 45. № 11. P. e54.
58. Caplan A.I. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine / *Principles of regenerative medicine.* English: Academic Press, 2019. P. 219.
59. Kikuchi-Taura A., Okinaka Y., Takeuchi Y. et al. Bone Marrow Mononuclear Cells Activate Angiogenesis via Gap Junction—Mediated Cell-Cell Interaction // *Stroke.* 2020. V. 51. № 4. P. 1279.
60. Brisset A.C., Isakson B.E., Kwak B.R. Connexins in vascular physiology and pathology // *Antioxid. Redox Signal.* 2009. V. 11. № 2. P. 267.
61. Caplan A.I. All MSCs are pericytes? // *Cell Stem Cell.* 2008. V. 3. № 3. P. 229.
62. Rönnebeck C., Hansson E. Gap junction coupled cells, barriers and systemic inflammation // *Int. J. Open Access Ophthalmol.* 2017. V. 2. № 1. P. 7.
63. Peppiatt C.M., Howarth C., Mobbs P. et al. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes // *Nature.* 2006. V. 443. № 7112. P. 700.
64. Ivanova E., Kovacs-Oller T., Sagdullaev B.T. Vascular pericyte impairment and connexin43 gap junction deficit contribute to vasomotor decline in diabetic retinopathy // *J. Neurosci.* 2017. V. 37. № 32. P. 7580.
65. He D.S., Jiang J.X., Taffet S.M. et al. Formation of heteromeric gap junction channels by connexins 40 and 43 in vascular smooth muscle cells // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999. V. 96. № 11. P. 6495.
66. Andreeva E.R., Serebryakov V.N., Orekhov A.N. Gap junctional communication in primary culture of cells derived from human aortic intima // *Tissue Cell.* 1995. V. 27. № 5. P. 591.
67. Wang L.J., Liu W.D., Zhang L. et al. Enhanced expression of Cx43 and gap junction communication in vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats // *Mol. Med. Rep.* 2016. V. 14. № 5. P. 4083.
68. Gairhe S., Bauer N.N., Gebb S.A. et al. Serotonin passes through myoendothelial gap junctions to promote pulmonary arterial smooth muscle cell differentiation // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2012. V. 303. № 9. P. L767.
69. Gao Y., Chen T., Raj J.U. Endothelial and smooth muscle cell interactions in the pathobiology of pulmo-

- nary hypertension // *Am. J. Res. Cell Mol. Biol.* 2016. V. 54. № 4. P. 451.
70. *Skiöldebrand E., Thorfve A., Björklund U. et al.* Biochemical alterations in inflammatory reactive chondrocytes: evidence for intercellular network communication // *Heliyon*. 2018. V. 4. № 1. P. e00525.
 71. *Mayan M.D., ago-Fuentes R., Carpintero-Fernandez P. et al.* Articular chondrocyte network mediated by gap junctions: role in metabolic cartilage homeostasis // *Ann. Rheum. Dis.* 2015. V. 74. № 1. P. 275.
 72. *Wiesner M., Berberich O., Hoefner C. et al.* Gap junctional intercellular communication in adipose-derived stromal/stem cells is cell density-dependent and positively impacts adipogenic differentiation // *J. Cell. Physiol.* 2018. V. 233. № 4. P. 3315.
 73. *Lin F., Zheng G.Z., Chang B.O. et al.* Connexin 43 modulates osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells through GSK-3 β /beta-catenin signaling pathways // *Cell. Physiol. Biochem.* 2018. V. 47. № 1. P. 161.
 74. *Talbot J., Brion R., Lamora A. et al.* Connexin43 intercellular communication drives the early differentiation of human bone marrow stromal cells into osteoblasts // *J. Cell. Physiol.* 2018. V. 233. № 2. P. 946.
 75. *Zhang C., Li Y., Chen J. et al.* Bone marrow stromal cells upregulate expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4, gap junction protein connexin-43 and synaptophysin after stroke in rats // *Neuroscience*. 2006. V. 141. № 2. P. 687.
 76. *Mori R., Power K.T., Wang C.M. et al.* Acute downregulation of connexin43 at wound sites leads to a reduced inflammatory response, enhanced keratinocyte proliferation and wound fibroblast migration // *J. Cell Sci.* 2006. V. 119. № 24. P. 5193.
 77. *Zhang X.F., Cui X.* Connexin 43: key roles in the skin // *Biomed. Rep.* 2017. V. 6. № 6. P. 605.
 78. *Tarzemany R., Jiang G., Larjava H., Häkkinen L.* Expression and function of connexin 43 in human gingival wound healing and fibroblasts // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 1. P. e0115524.
 79. *Matsuuchi L., Naus C.C.* Gap junction proteins on the move: connexins, the cytoskeleton and migration // *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2013. V. 1828. № 1. P. 94.
 80. *Hesketh G.G., Van Eyk J.E., Tomaselli G.F.* Mechanisms of gap junction traffic in health and disease // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2009. V. 54. № 4. P. 263.
 81. *Boengler K., Schulz R.* Connexin 43 and mitochondria in cardiovascular health and disease // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017. V. 982. P. 227.
 82. *Wright C.S., Van Steensel M.A., Hodgins M.B., Martin P.E.* Connexin mimetic peptides improve cell migration rates of human epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts in vitro // *Wound Repair Regen.* 2009. V. 17. № 2. P. 240.
 83. *Coutinho P., Qiu C., Frank S., Tamber K. et al.* Dynamic changes in connexin expression correlate with key events in the wound healing process // *Cell Biol. Int.* 2003. V. 27. № 7. P. 525.
 84. *Wang M., Berthoud V.M., Beyer E.C.* Connexin43 increases the sensitivity of prostate cancer cells to TNF α -induced apoptosis // *J. Cell Sci.* 2007. V. 120. № 2. P. 320.
 85. *Brandner J.M., Houdek P., Hüsing B. et al.* Connexins 26, 30, and 43: differences among spontaneous, chronic, and accelerated human wound healing // *J. Invest. Dermatol.* 2004. V. 122. № 5. P. 1310.
 86. *Mustoe T.* Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy // *Am. J. Surg.* 2004. V. 187. № 5. P. S65.
 87. *Abdullah K.M., Luthra G., Bilski J.J. et al.* Cell-to-cell communication and expression of gap junctional proteins in human diabetic and nondiabetic skin fibroblasts // *Endocrine*. 1999. V. 10. № 1. P. 35.
 88. *Schajnovitz A., Itkin T., D'Uva G. et al.* CXCL12 secretion by bone marrow stromal cells is dependent on cell contact and mediated by connexin-43 and connexin-45 gap junctions // *Nat. Immunol.* 2011. V. 12. № 5. P. 391.
 89. *Dhein S.* Gap junction channels in the cardiovascular system: pharmacological and physiological modulation // *Trends Pharmacol. Sci.* 1998. V. 19. № 6. P. 229.
 90. *Duling B.R., Berne R.M.* Longitudinal gradients in periarteriolar oxygen tension: a possible mechanism for the participation of oxygen in local regulation of blood flow // *Circ. Res.* 1970. V. 27. № 5. P. 669.
 91. *Christ G.J.* Modulation of α 1-adrenergic contractility in isolated vascular tissues by heptanol: a functional demonstration of the potential importance of intercellular communication to vascular response generation // *Life Sci.* 1995. V. 56. № 10. P. 709.
 92. *Little T.L., Xia J., Duling B.R.* Dye tracers define differential endothelial and smooth muscle coupling patterns within the arteriolar wall // *Circ. Res.* 1995. V. 76. № 3. P. 498.
 93. *Mariotti M., Maier J.A.M.* Angiogenesis: an overview / *New frontiers in angiogenesis*. Springer. Dordrecht, 2006. P. 1.
 94. *Steiner D., Lampert F., Stark G.B. et al.* Effects of endothelial cells on proliferation and survival of human mesenchymal stem cells and primary osteoblasts // *J. Orthop. Res.* 2012. V. 30. № 10. P. 1682.
 95. *Li J., Lampert F., Stark G.B., Finkenzeller G.* Transcriptional profiling reveals crosstalk between mesenchymal stem cells and endothelial cells promoting prevascularization by reciprocal mechanisms // *Stem Cells Dev.* 2015. V. 24. № 5. P. 610.
 96. *De Moor L., Merovci I., Baetens S. et al.* High-throughput fabrication of vascularized spheroids for bioprinting // *Biofabrication*. 2018. V. 10. № 3. P. 035009.
 97. *Ma J., van den Beucken J.J., Yang F. et al.* Coculture of osteoblasts and endothelial cells: optimization of culture medium and cell ratio // *Tissue Eng. Part C Methods*. 2011. V. 17. № 3. P. 349.
 98. *Villars F., Guillotin B., Amedee T. et al.* Effect of HUVEC on human osteoprogenitor cell differentiation needs heterotypic gap junction communication // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002. V. 282. № 4. P. C775.
 99. *Grellier M., Bordenave L., Amedee J.* Cell-to-cell communication between osteogenic and endothelial lin-

- eages: implications for tissue engineering // *Trends Biotechnol.* 2009. V. 27. № 10. P. 562.
100. *Islam M.N., Das S.R., Emin M.T. et al.* Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury // *Nat. Med.* 2012. V. 18. № 5. P. 759.
 101. *Sinclair K.A., Yerkovich S.T., Hopkins P.M.A., Chambers D.C.* Characterization of intercellular communication and mitochondrial donation by mesenchymal stromal cells derived from the human lung // *Stem Cell Res. Ther.* 2016. V. 7. № 1. P. 91.
 102. *Zhang J., Niu C., Ye L. et al.* Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size // *Nature.* 2003. V. 425. № 6960. P. 836.
 103. *Calvi L.M., Adams G.B., Weibrecht K.W. et al.* Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche // *Nature.* 2003. V. 425. № 6960. P. 841.
 104. *Correia C., Grayson W.L., Park M. et al.* In vitro model of vascularized bone: synergizing vascular development and osteogenesis // *PloS One.* 2011. V. 6. № 12. P. e28352.
 105. *Villars F., Guillotin B., Amedee T. et al.* Effect of HUVEC on human osteoprogenitor cell differentiation needs heterotypic gap junction communication // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002. V. 282. № 4. P. C775.
 106. *Guillotin B., Bareille R., Bourget C. et al.* Interaction between human umbilical vein endothelial cells and human osteoprogenitors triggers pleiotropic effect that may support osteoblastic function // *Bone.* 2008. V. 42. № 6. P. 1080.
 107. *Herzog D.P.E., Dohle E., Bischoff I., Kirkpatrick C.J.* Cell communication in a coculture system consisting of outgrowth endothelial cells and primary osteoblasts // *Biomed Res. Int.* 2014. V. 2014. P. 320123.
 108. *Villars F., Guillotin B., Amedee T. et al.* Effect of HUVEC on human osteoprogenitor cell differentiation needs heterotypic gap junction communication // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002. V. 282. № 4. P. C775.

The Role of Gap Junctions in Endothelial-Stromal Cell Interactions

M. I. Ezdakova^a, D. K. Matveeva^a, S. V. Buravkov^b, E. R. Andreeva^{a, *}

^a*Institute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow, Russia*

^b*Moscow State University, Moscow, Russia*

*E-mail: andreeva_er@mail.ru

Gap junctions are one of the most highly specialized intercellular communications, providing not only electrical coupling, but also metabolic cooperation between cells due to the direct exchange of cytoplasmic components. Interaction of the endothelial and stromal cells through gap junctions makes a significant contribution to the control of the state of the vascular wall, as well as to the regulation of homeostasis of other tissues both under physiological and pathological conditions. This review presents modern data on homocellular gap junctions in endothelial cells and stromal progenitors of different commitment, as well as the role of heterocellular communication in the interplay of these cellular types.

Keywords: stromal lineage cells, endothelial cells, intercellular communication, gap junctions.