

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 577.112.388.3:57.017.73:547.962.9:616-002.5/7

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-1-62-67>

Поступила в редакцию 29.12.2022

Received 29.12.2022

А. Н. Путятина, Л. Б. Ким, Г. С. Русских¹

*Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины,
Новосибирск, Российская Федерация*

ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЗМА КОЛЛАГЕНОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ БЦЖ-ИНДУЦИРОВАННОМ ТУБЕРКУЛЕЗНОМ ВОСПАЛЕНИИ

Аннотация. В работе представлены данные, полученные при исследовании органов мышей с БЦЖ-индуцированным гранулематозом. В печени, легких, селезенке мышей опытной и контрольной групп измеряли содержание фракций свободного, пептидно-связанного, белково-связанного гидроксипролина (ГОП) методом щелочного гидролиза в собственной модификации. У мышей с БЦЖ-гранулематозом отмечено повышенное содержание фракций ГОП, отражающих синтез коллагенов, тогда как содержание свободного ГОП, свидетельствующего о деградации коллагенов, не отличалось от аналогичных показателей контрольной группы. Анализ соотношения отдельных фракций ГОП продемонстрировал различную степень выраженности фиброза в органах мышей: усиленный – в легких, умеренный – в печени, слабый – в селезенке, что свидетельствует об органоспецифичности фиброгенеза при туберкулезной инфекции.

Ключевые слова: фракции гидроксипролина, коллаген, щелочной гидролиз, фиброз, туберкулез, органы мышей

Для цитирования: Путятина, А. Н. Оценка метаболизма коллагенов при экспериментальном БЦЖ-индуцированном туберкулезном воспалении / А. Н. Путятина, Л. Б. Ким, Г. С. Русских // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2024. – Т. 21, № 1. – С. 62–67. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-1-62-67>

Anna N. Putyatina, Lena B. Kim, Galina S. Russkikh

Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

ASSESSING THE COLLAGEN METABOLISM IN EXPERIMENTAL BCG-INDUCED TUBERCULOUS INFLAMMATION

Abstract. The paper presents the study results of the organs of mice without (control group) and with BCG-induced granulomatosis. The contents of hydroxyproline (Hyp) fractions (free, peptide-bound, and protein-bound) were measured in the liver, lungs, and spleen by our alkaline hydrolysis method. In mice with BCG-induced granulomatosis, an increased content of Hyp fractions, reflecting the collagen synthesis, was observed, while the content of free Hyp, characterizing the collagen degradation, did not differ from similar indicators of the control group. The analysis of the ratios of individual Hyp fractions showed a different fibrosis degree in the organs. It was high in the lungs, moderate in the liver and weak in the spleen, thus indicating the organ-specific fibrogenesis in tuberculous infection.

Keywords: hydroxyproline fractions, collagen, alkaline hydrolysis, fibrosis, tuberculosis, organs of mice

For citation: Putyatina A. N., Kim L. B., Russkikh G. S. Assessing the collagen metabolism in experimental BCG-induced tuberculous inflammation. *Vesti Natsyynal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 1, pp. 62–67 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-1-62-67>

Введение. По данным ВОЗ, туберкулез (ТБ), микобактериями которого инфицирована четверть населения мира, остается одной из 10 основных причин смерти (Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization, 2020). В связи с этим остро стоит проблема своевременной диагностики, оценки степени распространенности процесса, развития осложнений и эффективности лечения такого наиболее частого осложнения, развивающегося при всех гранулематозных и негранулематозных воспалениях, как фиброз.

Общеизвестно, что в основе физиологических и патологических процессов лежит ремоделирование внеклеточного матрикса (ВКМ) в органах и тканях человека и животных, при котором наблюдается количественное и качественное изменение одного из его ключевых компонентов, а именно коллагена. Обмен коллагенов изучают по их маркерам синтеза и деградации [1–3]. При необходимости изучения общего содержания коллагенов прибегают к определению аминокис-

лоты – гидроксипролина (ГОП), используя для этого один из методов из огромного спектра методических подходов [1, 4–7]. Оценка интенсивности обмена коллагенов при ТБ по-прежнему остается актуальной [8], поскольку от его характера зависит «полноценность» процесса заживления (рассасывание, фиброз, склерозирование на фоне проводимой химиотерапии), которая и определяет качество жизни пациентов.

Цель работы – изучение обмена коллагенов у мышей с экспериментальным туберкулезным воспалением с помощью усовершенствованного метода определения фракций гидроксипролина.

Материалы и методы исследования. Для исследования обмена коллагенов в органах животных за основу был взят метод щелочного гидролиза N. J. Siddiqi [4], в который внесли определенные изменения. В частности, 10-кратно уменьшили изначальный объем супернатанта (с 500 до 50 мкл) и количество этанола для экстракции (с 2 мл до 200 мкл), сократили время гидролиза (с 3–4 ч до 30 мин). Этапы нейтрализации, окисления до пиррол-2-карбоновой кислоты и окрашивания продуктов окисления ГОП проводили согласно методике К. А. Athanasiou с соавт. [7]. Добавление соляной кислоты для нейтрализации оказалось целесообразным, поскольку повысило конечное содержание ГОП и чувствительность анализа [6, 9]. Эти изменения позволили сократить необходимое время для определения содержания фракций ГОП, уменьшить расход реактивов, повысить чувствительность, что сделало методику более доступной.

Исследование выполнено на 2-месячных мышах-самцах линии BALB/c массой 18–22 г, находившихся в стандартных лабораторных условиях со свободным доступом к питьевой воде и корму. Животные были разделены на две группы, по 5 мышей в каждой: 1-я группа – интактные животные, 2-я – БЦЖ-инфицированные. БЦЖ-индуцированное гранулематозное воспаление воспроизводили путем однократного введения вакцины БЦЖ в ретроорбитальный синус из расчета 0,5 мг микробных тел в 0,2 мл 0,85%-ного раствора NaCl. Исследование выполнено в соответствии с принципами гуманности, изложенными в Хельсинкской декларации и в «Правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977).

По истечении 5 мес. мышей выводили из эксперимента путем дислокации шейных позвонков под легким эфирным наркозом. Выделенные органы мышей (печень, легкие, селезенка) промывали в 0,9%-ном растворе NaCl (+4 °C), взвешивали, измельчали при 20 500 об/мин с помощью гомогенизатора Ultra Turrax T 10 Standart (IKA, Германия) и готовили на льду 10%-ный гомогенат на 0,9%-ном растворе NaCl (вес/объем). После фильтрования через капроновую ткань к аликвоте гомогената добавляли 0,1%-ный раствор Тритона X-100 (1:1), центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин, замораживали полученный супернатант и хранили при температуре –70 °C до момента использования.

В пробирки типа Eppendorf с 50 мкл полученного супернатанта трехкратно добавляли по 200 мкл 97%-ного этанола и каждый раз центрифугировали (10 мин при 3000 об/мин). Отдельно в пробирках высушивали супернатант (А) и осадок (Б) при +50 °C, а затем растворяли в 200 мкл дистиллированной воды. Отбирали по 80 мкл из пробирки (А) в 1-ю пробирку (свободный ГОП – свГОП) и во 2-ю пробирку (свГОП + пептидно-связанный ГОП (пепГОП)), из пробирки (Б) – в 3-ю пробирку (белково-связанный ГОП – белГОП) и во все пробирки добавляли по 80 мкл 4 N NaOH. Содержимое 2-й и 3-й пробирок подвергали термической обработке (30 мин при +120 °C), после чего охлаждали до комнатной температуры. Далее в каждую пробирку вносили по 80 мкл 4 N HCl для нейтрализации. В последующем добавляли по 500 мкл приготовленного *ex tempore* 0,062 М раствора хлорамина Т и оставляли пробирки на 20 мин при комнатной температуре. По окончании окисления приливали по 500 мкл приготовленного *ex tempore* 1 М реактива Эрлиха и сразу перемешивали согласно рекомендации [7] во избежание расслоения реактивов. Затем для образования хромофора пробирки нагревали 20 мин на водяной бане WB-4MS (Biosan, Латвия) при +65 °C и охлаждали при комнатной температуре.

Измерение оптической плотности проб проводили на спектрофотометре PD-303S (Arel, Япония) в кювете с длиной оптического пути 1 см при $\lambda = 550$ нм против контроля дистиллированной воды. В качестве стандарта использовали раствор ГОП (0–50 мкг ГОП/мл). Содержание ГОП

рассчитывали с помощью стандартной кривой с пересчетом на массу сухой ткани всего органа. По разности содержания ГОП во 2-й и 1-й пробирках определяли содержание пепГОП.

Для статистической обработки полученных результатов использовали пакет прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Результаты исследования были проверены на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Поскольку в большинстве случаев распределение признаков в выборках не подчинялось закону нормального распределения, использовали непараметрический метод, учитывая медиану (Me [25-й; 75-й перцентиль]). Для проверки статистической гипотезы разности значений для двух независимых переменных применяли *U*-критерий Манна–Уитни. Критическим уровнем значимости при проверке статистической гипотезы принимали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В печени мышей 2-й группы по сравнению с данными животных 1-й группы отмечено повышенное (в 1,3 раза) содержание белГОП (см. таблицу), что и определило высокое содержание общего ГОП (обГОП) во 2-й группе инфицированных мышей. Различий в содержании других фракций ГОП (свГОП и пепГОП) не выявлено.

Содержание гидроксипролина (мкг ГОП/мг сухой ткани) в органах мышей при туберкулезном воспалении
Hydroxyproline content (μg Hyp/mg of dry tissue) in the organs of mice with tuberculous inflammation

Орган	Фракция ГОП	Группа животных		<i>p</i>
		Интактные	БЦЖ	
Печень	свГОП	165,85 [84,77; 182,81]	158,98 [99,04; 182,51]	–
	пепГОП	176,22 [106,85; 272,76]	260,90 [155,50; 448,81]	–
	белГОП	288,57 [236,29; 315,42]	361,55 [332,73; 393,21]	0,010
	обГОП	577,14 [520,99; 704,66]	774,54 [721,64; 893,58]	0,014
Легкие	свГОП	5,99 [3,11; 11,45]	6,76 [5,99; 9,61]	–
	пепГОП	16,83 [12,27; 18,00]	32,43 [27,22; 37,58]	0,0005
	белГОП	14,40 [12,70; 18,47]	39,82 [32,83; 40,70]	0,0005
	обГОП	34,99 [32,47; 44,65]	78,00 [67,25; 87,18]	0,0005
Селезенка	свГОП	6,27 [4,04; 9,24]	9,65 [6,12; 13,92]	–
	пепГОП	12,60 [11,45; 16,10]	22,33 [15,55; 27,48]	0,050
	белГОП	15,00 [11,57; 18,34]	23,07 [14,13; 25,00]	–
	обГОП	34,91 [27,06; 43,15]	57,89 [35,79; 64,97]	–

П р и м е ч а н и е. Результаты исследования представлены в виде Me [25-й; 75-й перцентиль], свГОП – свободный гидроксипролин (ГОП), пепГОП – пептидно-связанный ГОП, белГОП – белково-связанный ГОП, обГОП – общий ГОП.

В легких мышей 2-й группы наблюдали повышенное содержание пепГОП (в 2 раза) и белГОП (в 2,4 раза) относительно данных 1-й группы (см. таблицу), что обеспечило соответствующее повышение обГОП в органе. Как и в печени, содержание свГОП не отличалось от такового у мышей 1-й группы.

В селезенке мышей 2-й группы содержание пепГОП было повышено в 1,6 раза по сравнению с аналогичным показателем у мышей 1-й группы (см. таблицу). Значимых различий в содержании белГОП и обГОП относительно данных 1-й группы не отмечено. Содержание свГОП в селезенке мышей 2-й группы, как и в двух других органах, не отличалось от его уровня у мышей 1-й группы (см. таблицу).

Известно, что содержание свГОП в биологическом материале отражает деградацию коллагенов, пепГОП – скорость биологического оборота коллагенов [3], тогда как белГОП – синтез коллагенов. Таким образом, фракции ГОП позволяют судить о характере изменения обмена коллагенов.

При этом повышенное содержание ГОП в сыворотке крови свидетельствует об увеличении его количества в ВКМ внутренних органов и отражает выраженность фиброза [1]. Показано, что

снижение содержания белГ ОП в плазме крови пациентов с множественной лекарственной устойчивостью детерминирует благоприятное течение ТБ [8].

Недавно были получены результаты исследования ГОП в сыворотке крови мышей линии BALB с БЦЖ-гранулематозом описанным выше методом [10]. Оказалось, что содержание пепГОП ($0,28 \pm 0,04$ мкг/мл) в 3,5 раза выше, чем у интактных животных ($0,08 \pm 0,02$ мкг/мл, $p = 0,002$). Уровень свГОП у инфицированных мышей в сыворотке крови, как и в представленных выше органах, не отличался от такового у интактных животных. Однако, несмотря на отсутствие межгрупповых различий, содержание свГОП в сыворотке крови мышей с БЦЖ-гранулематозом положительно коррелировало с его уровнем в печени ($r = 0,90$, $p = 0,040$) и легких ($r = 0,90$, $p = 0,037$) инфицированных мышей. Полученные корреляции согласуются с предположением о взаимосвязи уровня ГОП в сыворотке крови и содержанием коллагена в органах [1].

При оценке содержания ГОП методом кислотного гидролиза, описанного в предыдущей работе [11], в органах инфицированных мышей с БЦЖ-гранулематозом (2-я группа) нами были получены меньшие значения ГОП: в печени – в 4 раза ниже ($200,61 \pm 87,28$ мкг ГОП/мг сухой ткани, $p = 0,0005$), в легких – в 1,2 раза ниже ($63,46 \pm 25,35$ мкг ГОП/мг сухой ткани), в селезенке – в 1,03 раза ниже ($50,36 \pm 9,46$ мкг ГОП/мг сухой ткани), чем при использовании метода щелочного гидролиза ($800,99 \pm 95,87$; $77,37 \pm 10,54$ и $51,88 \pm 15,89$ мкг ГОП/мг сухой ткани соответственно). В то же время в другом исследовании при определении содержания коллагена в печени свиней не выявлено зависимости от способа гидролиза [6].

Оценка фракций ГОП и их соотношения позволяет не только определить характер обмена коллагенов при физиологических и патологических состояниях, но и использовать их для уточнения выраженности фиброза. Поскольку содержание белГОП отражает синтез, а свГОП – деградацию коллагенов, их отношение могло бы отражать выраженность фиброза. Расчет соотношения белГОП/свГОП у мышей 2-й группы показал, что в легких оно составило 5,0, в печени – 2,5, в селезенке – 2,0, что свидетельствует о разной степени выраженности фиброза и органоспецифичности фиброгенеза при БЦЖ-индуцированном гранулематозе.

Таким образом, обмен коллагенов в органах мышей при туберкулезном воспалении отличается от такового у интактных животных. Об этом свидетельствуют повышенное содержание белГОП, пепГОП и обГОП в легких, белГОП и обГОП в печени, пепГОП в селезенке и отсутствие различий в содержании свГОП во всех трех органах. Такое распределение фракций ГОП отражает преобладание синтеза коллагенов и подавление деградации, что приводит к избыточному депонированию фиброзной ткани. В легких инфицированных мышей фиброз был более выражен, чем в печени и селезенке.

Аналогичные результаты были получены ранее индийскими учеными [12]. Используя метод кислотного гидролиза, авторы продемонстрировали более выраженный фиброз в легких морских свинок с ТБ (штамм H37Rv) относительно интенсивности этого процесса в печени и селезенке.

Одной из причин усиленного фиброгенеза при ТБ рассматривают повышенную экспрессию коллагенов I и III типов в ткани легкого [13]. Определенную роль при ТБ легких отводят фактору некроза опухоли- α (его экспрессия повышается параллельно с содержанием ГОП [11]), а также стимуляции пролиферации фибробластов в зоне поражения, которая подтверждается повышением уровня аутоантител к коллагену I и III типов в сыворотке крови [14]. При фиброгенезе у мышей с БЦЖ-гранулематозом имеет значение индукция эпителиально-мезенхимального перехода и активация профибротических процессов, связанная с усилением экспрессии цепи $\alpha 1$ коллагена III типа и трансформирующего ростового фактора β в ткани легкого [15].

Заключение. Примененный нами метод щелочного гидролиза для изучения обмена коллагенов по содержанию отдельных фракций ГОП прост в использовании, не требует большого объема биологического материала и менее продолжителен по времени по сравнению с методом кислотного гидролиза. Для корректной оценки содержания отдельных фракций ГОП были внесены описанные выше изменения, позволившие устранить технические ограничения. Увеличение выхода измеряемого аналита обеспечил введенный этап нейтрализации.

Использование усовершенствованного метода показало, что развитие фиброза в органах мышей с БЦЖ-индуцированным гранулематозом связано с повышенным синтезом коллагенов (пепГОП и/или белГОП) относительно их деградации (свГОП). Наиболее выраженный фиброз был в легких инфицированных мышей. Данный способ может быть рекомендован для изучения процессов фиброгенеза и фибролиза не только при туберкулезном воспалении, но и при других патологических процессах, в патогенезе которых ВКМ играет ключевую роль.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания № 122032300155-4 с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы».

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of state assignment No. 122032300155-4 using the equipment of the Center for Shared Use “Modern Optical Systems”.

Список использованных источников

1. Hydroxyproline as a biomarker in liver disease / S. A. Gabr [et al.] // *Biomarkers in liver disease. Biomarkers in disease: methods, discoveries and applications.* – Dordrecht, 2016. – P. 471–491. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7742-2_26-1
2. The collagen suprafamily: from biosynthesis to advanced biomaterial development / A. Sorushanova [et al.] // *Adv. Mater.* – 2019. – Vol. 31, N 1. – P. e1801651. <https://doi.org/10.1002/adma.201801651>
3. Extracellular matrix markers and methods for their study (review) / E. V. Tush [et al.] // *CTM.* – 2019. – Vol. 11, N 2. – P. 133–147. <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.2.20>
4. Siddiqi, N. J. Effect of sodium fluoride and magnesium chloride on different hydroxyproline fractions in rat liver / N. J. Siddiqi // *J. Biochem. Biophys.* – 2012. – Vol. 49, N 2. – P. 130–133.
5. Measurement of hydroxyproline in collagen with three different methods / B. Qiu [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2014. – Vol. 10, N 2. – P. 1157–1163. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2267>
6. da Silva, C. M. L. Fast and sensitive collagen quantification by alkaline hydrolysis/hydroxyproline assay / C. M. L. da Silva, E. Spinelli, S. V. Rodrigues // *Food Chem.* – 2015. – Vol. 173. – P. 619–623. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.073>
7. Assaying for total collagen content. Articular cartilage / K. A. Athanasiou [et al.]. – 2nd ed. – Boca Raton, 2017. – P. 585–587.
8. Dynamics of aldosterone, connective tissue reorganization and glucose level as markers for tuberculosis treatment effectiveness / O. S. Shevchenko [et al.] // *Archives Balkan Med. Union.* – 2019. – Vol. 54, N 2. – P. 274–280. <https://doi.org/10.31688/ABMU.2019.54.2.08>
9. Способ определения фракций гидроксипролина в биологическом материале : пат. № 2735375 от 30.10.2020 / А. Н. Путятина, Г. С. Русских, Л. Б. Ким // *Изобретения. Полезные модели: офиц. бюл.* – 2020. – № 31.
10. Content of the major extracellular matrix components of the liver and lung in mice with chronic BCG-granulomatosis treated with liposome-encapsulated dextrazide / L. B. Kim [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2021. – Vol. 170, N 4. – P. 453–457. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05086-7>
11. Fibrogenesis in granulomas and lung interstitium in tuberculous inflammation in mice / V. A. Shkurupiy [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2014. – Vol. 156, N 6. – P. 731–735. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2435-y>
12. Jayasankar, K. Biochemical and histochemical changes relating to fibrosis following infection with *Mycobacterium tuberculosis* in the guinea pig / K. Jayasankar, V. D. Ramanathan // *Indian J. Med. Res.* – 1999. – Vol. 110. – P. 91–97.
13. Lung gene expression signatures suggest pathogenic links and molecular markers for pulmonary tuberculosis, adenocarcinoma and sarcoidosis / Q. Chai [et al.] // *Commun. Biol.* – 2020. – Vol. 3, N 1. – P. 604. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01318-0>
14. Тарасова, Л. Г. Особенности коллагенового обмена в сопоставлении с иммунологическим статусом у больных туберкулезом легких / Л. Г. Тарасова, Е. Н. Стрельцова // *Астрахан. мед. журн.* – 2016. – Т. 11, № 4. – С. 100–105.
15. Экспрессия генов белков, сопряженных с фибротическими процессами, в легких мышей при развитии туберкулезного воспаления / П. М. Кожин [и др.] // *Сибир. науч. мед. журн.* – 2019. – Т. 39, № 4. – С. 22–29.

References

1. Gabr S. A., Alghadir A. H., Sherif Y. E., Ghfar A. A. Hydroxyproline as a biomarker in liver disease. *Biomarkers in liver disease. Biomarkers in disease: methods, discoveries and applications.* Dordrecht, 2016, pp. 471–491. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7742-2_26-1
2. Sorushanova A., Delgado L. M., Wu Z., Shologu N., Kshirsagar A., Raghunath R. [et al.]. The collagen suprafamily: from biosynthesis to advanced biomaterial development. *Advanced Materials*, 2019, vol. 31, no. 1, p. e1801651. <https://doi.org/10.1002/adma.201801651>
3. Tush E. V., Eliseeva T. I., Khaletskaya O. V., Krasilnikova S. V., Ovsyannikov D. Yu., Potemina T. E., Ignatov S. K. Extracellular matrix markers and methods for their study (review). *CTM*, 2019, vol. 11, no. 2, pp. 133–147. <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.2.20>

4. Siddiqi N. J. Effect of sodium fluoride and magnesium chloride on different hydroxyproline fractions in rat liver. *Journal of Biochemistry and Biophysics*, 2012, vol. 49, no. 2, pp. 130–133.
5. Qiu B., Wei F., Sun X., Wang X., Duan B., Shi C., Zhang J., Zhang J., Qiu W., Mu W. Measurement of hydroxyproline in collagen with three different methods. *Molecular Medicine Reports*, 2014, vol. 10, no. 2, pp. 1157–1163. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2267>
6. da Silva C. M. L., Spinelli E., Rodrigues S. V. Fast and sensitive collagen quantification by alkaline hydrolysis/hydroxyproline assay. *Food Chemistry*, 2015, vol. 173, pp. 619–623. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.073>
7. Athanasiou K. A., Darling E. M., Hu J. C., Reddi A. H. Assaying for total collagen content. *Articular cartilage. 2nd ed.* Boca Raton, 2017, pp. 585–587.
8. Shevchenko O. S., Todoriko L. D., Ovcharenko I. A., Radzishavska Ye. B., Shvets O. M., Ovcharenko S. S., Semianiv I. O., Vivsyannuk V. V. Dynamics of aldosterone, connective tissue reorganization and glucose level as markers for tuberculosis treatment effectiveness. *Archives of the Balkan Medical Union*, 2019, vol. 54, no. 2, pp. 274–280. <https://doi.org/10.31688/ABMU.2019.54.2.08>
9. Putyatina A. N., Russkikh G. S., Kim L. B. Method of determining fractions of hydroxyproline in biological material. Patent no. 2735375 (30.10.2020). *Izobreteniya. Poleznye modeli: ofitsial'nyi byulleten'* [Inventions. Utility models: official bulletin], 2020, no. 31 (in Russian).
10. Kim L. B., Putyatina A. N., Russkikh G. S., Shkurupy V. A. Content of the major extracellular matrix components of the liver and lung in mice with chronic BCG-granulomatosis treated with liposome-encapsulated dextrazide. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2021, vol. 170, no. 4, pp. 453–457. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05086-7>
11. Shkurupiy V. A., Kim L. B., Potapova O. V., Cherdantseva L. A., Putyatina A. N., Nikonova I. K. Fibrogenesis in granulomas and lung interstitium in tuberculous inflammation in mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2014, vol. 156, no. 6, pp. 731–735. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2435-y>
12. Jayasankar K., Ramanathan V. D. Biochemical and histochemical changes relating to fibrosis following infection with *Mycobacterium tuberculosis* in the guinea pig. *Indian Journal of Medical Research*, 1999, vol. 110, pp. 91–97.
13. Chai Q., Lu Z., Liu Z., Zhong Y., Zhang F., Qiu C., Li B., Wang J., Zhang L., Pang Y., Liu C. H. Lung gene expression signatures suggest pathogenic links and molecular markers for pulmonary tuberculosis, adenocarcinoma and sarcoidosis. *Communications Biology*, 2020, vol. 3, no. 1, p. 604. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01318-0>
14. Tarasova L. G., Strel'tsova E. N. Features of collagen exchange as compared to immunological status of patients with pulmonary tuberculosis. *Astrahanskii meditsinskii zhurnal* [Astrakhan medical journal], 2016, vol. 11, no. 4, pp. 100–105 (in Russian).
15. Kozhin P. M., Chechushkov A. V., Zaitseva N. S., Khrapova M. V., Cherdantseva L. A., Men'shchikova E. B., Troitskii A. V., Shkurupiy V. A. Expression of protein genes participating in fibroplastic processes in mice lung during the development of tuberculous inflammation. *Sibirskii nauchnyi meditsinskii zhurnal* [Siberian scientific medical journal], 2019, vol. 39, no. 4, pp. 22–29 (in Russian).

Информация об авторах

Пуятина Анна Николаевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник. Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ул. Тимакова, 2, 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0001-9599-3049>. E-mail: putyatina@ngs.ru

Ким Лена Борисовна – д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, руководитель группы. Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ул. Тимакова, 2, 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация). <http://orcid.org/0000-0002-4051-8854>. E-mail: lbkim@frcftm.ru

Русских Галина Сергеевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ул. Тимакова, 2, 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация). <http://orcid.org/0000-0003-1565-5248>. E-mail: russkikh_g@mail.ru

Information about the authors

Anna N. Putyatina – Ph. D. (Med.), Researcher. Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (2, Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-9599-3049>. E-mail: putyatina@ngs.ru

Lena B. Kim – D. Sc. (Med.), Chief Researcher, Head of the group. Research Center of Fundamental and Translational Medicine (2, Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). <http://orcid.org/0000-0002-4051-8854>. E-mail: lbkim@frcftm.ru

Galina S. Russkikh – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Research Center of Fundamental and Translational Medicine (2, Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). <http://orcid.org/0000-0003-1565-5248>. E-mail: russkikh_g@mail.ru