

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 576.311.344.4:577.352.24:615.28:616-002.5/7:57.085.1

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-219-230>

Поступила в редакцию 08.06.2023

Received 08.06.2023

Л. Б. Ким, А. Н. Путятина, Г. С. Русских, А. В. Троицкий

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

СОСТОЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА СЕЛЕЗЕНКИ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ДЕКСТРАЗИДА МЫШАМ В ПЕРИОДЕ ХРОНИЧЕСКОГО БЦЖ-ИНДУЦИРОВАННОГО ГРАНУЛЕМАТОЗА

Аннотация. Фиброз паренхиматозных органов является распространенным осложнением туберкулеза. На модели БЦЖ-индуцированного воспаления у мышей продемонстрированы изменения метаболизма внеклеточного матрикса (ВКМ) селезенки при введении липосомальной формы декстразида (ЛФДЗ), содержащей изониазид и окисленный декстран.

Мыши были разделены на 4 группы: 1 – интактные животные; 2 – инфицированные мыши после однократного внутривенного введения вакцины БЦЖ; 3 – животные, которым через 6 мес. после инфицирования в течение 3 мес. вводили раствор ЛФДЗ внутриперитонеально; 4 – мыши, которым вводили то же, что и животным группы 3, но ингаляционно. У мышей группы 2 обнаружены признаки выраженного фиброза селезенки (повышенное содержание гиалуронана, фракций гидроксипролина) при активации гиалуронидаз, матриксных металлопротеиназ (ММП), α 2-макроглобулина и повышенном содержании тканевых ингибиторов ММП (ТИМП-1 и ТИМП-2) относительно данных группы 1. В группе 3 отмечены изменения в структуре протеогликанов (увеличение содержания уроновых кислот и галактозы), снижение уровней гиалуронана и свободного гидроксипролина, повышение активности гиалуронидаз. Активность ММП и содержание ТИМП соответствовали показателям в группе 2. В группе 4 также увеличилось содержание уроновых кислот и галактозы в протеогликанах, но отмечалось снижение уровня пептидно-связанного гидроксипролина и более заметным было снижение содержания гиалуронана. Активность всех ферментов, регулирующих метаболизм ВКМ, была снижена относительно показателей в группе 2.

Таким образом, внутриперитонеальное введение ЛФДЗ инфицированным мышам привело к активации гиалуронидаз, изменению структуры протеогликанов, снижению содержания свободного гидроксипролина. Ингаляционное введение ЛФДЗ наряду с изменениями структуры протеогликанов снижало активность ММП, гиалуронидаз, α 2-макроглобулина, а также содержание ТИМП-1 и ТИМП-2, пептидно-связанного гидроксипролина. Антифибротический эффект ЛФДЗ проявился в снижении уровня пептидно-связанного гидроксипролина и в более значимом снижении содержания гиалуронана при ингаляционном введении, чем при внутриперитонеальном.

Ключевые слова: липосомальная форма декстразида, туберкулез селезенки, гликозаминогликаны, коллагены, матриксные металлопротеиназы/тканевые ингибиторы металлопротеиназ, α 2-макроглобулин, гиалуронидазы

Для цитирования: Состояние внеклеточного матрикса селезенки при введении липосомальной формы декстразида мышам в периоде хронического БЦЖ-индуцированного гранулематоза / Л. Б. Ким [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 219–230. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-219-230>

Lena B. Kim, Anna N. Putyatina, Galina S. Russkikh, Aleksandr V. Troitskij

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

LIPOsome-ENCAPSULATED DEXTRAZIDE MODIFIES SPLEEN EXTRACELLULAR MATRIX COMPOSITION IN MICE WITH CHRONIC BCG-INDUCED INFLAMMATION

Abstract. Fibrosis of parenchymal organs is a common complication of tuberculosis. In a model of BCG-induced inflammation in mice, changes in the metabolism of the extracellular matrix (ECM) of the spleen were demonstrated with the introduction of a liposome-encapsulated dextrazide (LEDZ) containing isoniazid and oxidized dextran.

The mice were divided into 4 groups: 1 – intact animals; 2 – infected mice after a single intravenous injection of BCG vaccine. 6 mo after infection, a solution of LEDZ was administered intraperitoneally to mice of group 3 for 3 mo, and inhaled to mice of group 4. Group 2 mice showed the signs of pronounced spleen fibrosis (increased content of hyaluronan, hydroxyproline fractions) with activation of hyaluronidases, matrix metalloproteinases (MMP), α 2-macroglobulin and an increased content of tissue inhibitors of MMP (TIMP-1 and TIMP-2) with respect to group 1 data. In group 3, changes in the structure of proteoglycans were noted (an increase in the content of uronic acids and galactose), a decrease in the content of hyaluronan and free hydroxyproline, an increase in the activity of hyaluronidases. The MMP activity and the TIMP content corresponded to the data of group 2. In group 4, the content of uronic acids and galactose in proteoglycans also increased, but peptide-bound hydroxyproline decreased and the hyaluronan content more noticeably decreased. The activity of all enzymes regulating the ECM metabolism reduced with respect to the data of group 2.

Thus, intraperitoneal administration of LEDZ to infected mice led to activating hyaluronidases, changing the structure of proteoglycans, and decreasing the free hydroxyproline content. Inhalation administration of LEDZ, along with changes in the structure of proteoglycans, reduced the activity of MMP, hyaluronidases, α 2-macroglobulin, the content of TIMP-1 and TIMP-2, peptide-bound hydroxyproline. The antifibrotic effect of LEDZ with inhalation administration was manifested in a decrease in peptide-bound hydroxyproline and in a more significant decrease in hyaluronan compared with intraperitoneal administration.

Keywords: liposome-encapsulated dextrazide, splenic tuberculosis, glycosaminoglycans, collagens, matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases, α 2-macroglobulin, hyaluronidases

For citation: Kim L. B., Putyatina A. N., Russkikh G. S., Troitskij A. V. Liposome-encapsulated dextrazide modifies spleen extracellular matrix composition in mice with chronic BCG-induced inflammation. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 219–230 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-219-230>

Введение. Туберкулез вызывает серьезную обеспокоенность специалистов во всем мире. По данным ВОЗ, из всех инфекционных болезней он остается одной из наиболее частых причин летальных исходов [1]. Большую обеспокоенность вызывает увеличение числа лекарственно-устойчивых форм туберкулеза, требующих разработки новых подходов в лечении [2]. Последние могут быть реализованы путем создания новых лекарственных средств, на разработку и производство которых потребуются десятилетия, либо путем модификации уже существующих препаратов с целью усиления их терапевтических свойств. При этом созданные новые или усовершенствованные известные лекарственные средства должны сочетать в себе высокую антибактериальную активность, низкую токсичность и способность предупреждать развитие осложнений.

Иммунная система является важным фактором, детерминирующим реакцию организма на инфицирование *M. tuberculosis* (*Mtb*). Селезенка – самый крупный лимфоидный орган иммунной системы, функции которого до конца не выяснены. Общеизвестно, что селезенка участвует в лимфопоэзе, выполняет функцию фильтра для инородных тел организма, в том числе бактерий, грибов, простейших, а также обеспечивает разрушение старых и поврежденных клеток крови (эритроцитов, тромбоцитов). Защитная функция селезенки связана с фагоцитозом чужеродных тел, лимфо- и моноцитопозом, преобразованием моноцитов в макрофаги. Есть единичные данные, что в селезенке БЦЖ-инфицированных мышей формируются гранулемы и развивается спленомегалия [3], практически отсутствуют данные о качественном и количественном составе внеклеточного матрикса (ВКМ) селезенки.

Актуальность данного исследования обусловлена необходимостью восполнения дефицита знаний о реакции ВКМ селезенки и о выраженности фиброза при туберкулезной инфекции. До последнего времени нет четкого представления об активном участии ВКМ селезенки при развитии туберкулезного воспаления и о характере ремоделирования ВКМ при введении лекарственных препаратов, что диктует необходимость выполнения таких исследований. В сложившейся ситуации актуальным и своевременным представляется решение задачи, нацеленной на оценку влияния созданной в Федеральном исследовательском центре фундаментальной и трансляционной медицины (ФИЦ ФТМ) Российской Федерации противотуберкулезной изониазид-содержащей композиции в липосомальной форме на метаболизм ВКМ селезенки у мышей, инфицированных вакциной БЦЖ (*Bacillus Calmette–Guérin*). На модели экспериментального туберкулеза у мышей при изучении печени и легких была показана целесообразность применения липосомальной формы декстразида (ЛФДЗ), состоящей из конъюгата изониазида и окисленного декстрана, заключенного в липосомы [4]. Эффект зависел от выраженности фиброза в органах в динамике БЦЖ-индуцированного воспаления, т. е. от периода развития туберкулезного процесса [4, 5]. Несомненный интерес представляет изучение реакции ВКМ селезенки при введении ЛФДЗ инфицированным мышам, особенно в запущенных случаях, когда терапия должна быть направлена не только на возбудителя заболевания, но и на развившиеся фибротические осложнения.

Цель настоящего исследования – изучить влияние введенной в период хронического БЦЖ-индуцированного воспаления противотуберкулезной композиции липосомальной формы декстразида на состояние внеклеточного матрикса селезенки мышей.

Объекты и методы исследования. Исследования проводили на здоровых мышах линии BALB/c (самцы в возрасте 2 мес. массой 18–22 г), которые были приобретены в Государственном

научно-исследовательском центре вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Кольцово, Россия). Все животные имели свободный доступ к пище и воде. Уход за животными и эксперименты осуществляли в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, а также с Правилами работы с подопытными животными. Протоколы экспериментов были одобрены Комитетом по биоэтике ФИЦ ФТМ.

БЦЖ-гранулематоз воспроизводили путем однократного введения в ретроорбитальный синус 0,5 мг микробных тел (вакцины БЦЖ, НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России) в 0,2 мл NaCl на животное. Мыши случайным образом были разделены на 4 группы (по 5 животных в каждой): группа 1 – интактные мыши (контроль); группа 2 – животные, которым через 6 мес. после инфицирования в течение 3 мес. 2 раза в неделю вводили внутривентрально по 50 мкл NaCl; группа 3 – мыши, которым внутривентрально вводили раствор ЛФДЗ (конъюгат изониазида и окисленного декстрана (40 кДа), заключенный в липосомы размером 0,20–0,25 мкм), по 50 мкл на животное; группа 4 группы – мыши, которым вводили то же, что и животным группы 3, но ингаляционно. ЛФДЗ распыляли в течение 5 мин в затравочной камере из расчета 50 мкл раствора на животное с помощью небулайзера Comp Air NE-C28-Ru (Omron, Китай).

Через 3 мес. от начала введения ЛФДЗ мышей выводили из эксперимента. Выделяли селезенку мышей и гомогенизировали ее при 20 500 об/мин с помощью гомогенизатора Ultra Turrax T 10 Standart (IKA, Германия) с добавлением охлажденного физиологического раствора (1:10, w/v). К полученному гомогенату добавляли 0,1%-й раствор тритона X-100 (1 : 1, v/v), перемешивали, центрифугировали на центрифуге CM-50 (Elmi, Латвия) в течение 10 мин при 3 000 об/мин. Супернатант хранили при температуре –70 °С до момента использования.

Для выделения протеогликанов (ПГ) селезенки измельченную ткань обрабатывали 10 объемами раствора 4 М гуанидин-хлорида в 50 мМ буфере ацетата натрия (pH 5,8) в присутствии ингибиторов протеаз (0,01 М ЭДТА, 0,005 М фенилметан сульфонил фторида, 0,1 М 6-аминокапроновой кислоты, 0,005 М солянокислого бензамидина) в течение 24 ч при 4 °С согласно [6]. Далее содержимое пробирок пропускали через нейлоновую ткань, экстракты диализовали против буфера 1 М ацетата натрия с 0,01 М ЭДТА, pH 5,8 (4 °С, 3 ч). Осаждали липиды и белки, после повторного диализа добавляя в раствор 10%-го цетилпиридиния хлорида до насыщения, выделяли ПГ и гликозаминогликаны (ГАГ). Осадок обрабатывали 5 мМ сульфата натрия с 0,05 % цетилпиридиния хлорида и тремя объемами этанола в присутствии 4 % ацетата калия.

Определяли содержание сульфатированных ГАГ (сГАГ), белка, уроновых кислот (УК), галактозы (ГАЛ) по описанным ранее методам [4].

Содержание фракций гидроксипролина (ГОП), маркера коллагена, оценивали согласно описанию в [7].

Измеряли активность гиалуронидаз, α 2-макроглобулина (α 2-МГ) [4]. Активность матриксных металлопротеиназ (ММП) оценивали с помощью субстрата FS-6 (Sigma-Aldrich Co., Ltd., США) флуориметрическим методом на спектрофлуориметре RF-5301 PC (Shimadzu, Япония). К 80 мкл трис-HCl буфера (pH 7,5), содержащего 0,1 М трис, 0,1 М NaCl, 10 мМ CaCl₂, 0,05 % тритон X-100, 0,1 % PEG6000, добавляли 100 мкл 10 мкМ субстрата FS-6, 20 мкл супернатанта селезенки, 20 мкл 10 мМ фенилметан сульфонил фторида. Реакционные смеси инкубировали 30 мин при 37 °С, реакцию останавливали путем добавления в инкубационную смесь охлажденного 50 мкМ ЭДТА. В качестве стандарта использовали 1 мкМ 7-амино-4-метил-кумарин (Sigma-Aldrich Co., Ltd., США).

Содержание гиалуронана (MyBioSource Inc., Германия), тканевых ингибиторов ММП, а именно ТИМП-1 и ТИМП-2 (Thermo Fisher Scientific Inc., США), в супернатанте селезенки измеряли с помощью наборов для ИФА в соответствии с инструкциями производителя. Оптическую плотность оценивали с помощью планшетного спектрофотометра Stat Fax-2100 (Awareness Technology Inc., США). Активность гиалуронидаз, ММП, α 2-МГ и содержание гиалуронана, ТИМП пересчитывали на белок.

Для статистической обработки полученных результатов использовали пакет прикладных программ Statistica, версия 10.0 (StatSoft Inc., США). Поскольку в большинстве случаев распределение

признаков в выборках не подчинялось закону нормального распределения, использовали непараметрический метод: учитывали медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q_{25} ; Q_{75}). Для проверки статистической гипотезы разности значений для двух независимых переменных использовали U -критерий Манна–Уитни. Критическим уровнем значимости при проверке статистической гипотезы считали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Компоненты ВКМ селезенки при инфицировании *Mtb* вакцины БЦЖ. У мышей группы 2 содержание УК, сГАГ было снижено, тогда как уровень гиалуронана был многократно выше, чем в группе 1 (см. таблицу). При этом статистически значимых различий в содержании ГАЛ и белка в ПГ с данными группы 1 не отмечено.

Изменение ВКМ селезенки мышей с БЦЖ-гранулематозом при введении ЛФДЗ
Change in the ECM spleen in mice with BCG granulomatosis with the introduction of LEDZ

Показатель	Группа 1 (контроль)	Группа 2 (NaCl внутри- перитонеально)	Группа 3 (ЛФДЗ внутри- перитонеально)	Группа 4 (ЛФДЗ ингаляционно)	p
Гиалуронан, нг/мг белка [5]	4,45 (3,87; 5,34)	178,62 ^a (167,82; 235,96)	155,17 ^{ab} (140,83; 164,03)	33,65 ^{abc} (27,93; 53,05)	$p_{1-2} = 0,0005$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-3} = 0,009$ $p_{2-4} = 0,0005$ $p_{3-4} = 0,0005$
сГАГ, мкг/мг сухой ткани	0,84 (0,77; 0,86)	0,69 ^a (0,38; 0,75)	0,81 (0,52; 0,85)	0,79 (0,66; 1,04)	$p_{1-2} = 0,021$
Белок, мкг/мг сухой ткани	2,11 (2,02; 2,13)	2,00 (1,21; 2,33)	2,22 (1,53; 2,37)	2,11 (1,62; 2,67)	—
Уроновые кислоты, мкг/мг сухой ткани	0,13 (0,05; 2,36)	0,01 ^a (0,01; 0,04)	0,39 ^b (0,37; 0,40)	0,11 ^{bc} (0,08; 0,18)	$p_{1-2} = 0,016$ $p_{2-3} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,009$ $p_{3-4} = 0,0005$
Галактоза, мкг/мг сухой ткани	0,01 (0,01; 0,02)	0,03 (0,01; 0,04)	0,28 ^{ab} (0,17; 0,50)	0,25 ^{ab} (0,16; 0,47)	$p_{1-3} = 0,008$ $p_{1-4} = 0,005$ $p_{2-3} = 0,009$ $p_{2-4} = 0,009$
Свободный ГОП, мкг/мг сухой ткани	4,35 (3,35; 4,44)	52,65 ^a (47,55; 68,26)	37,44 ^{ab} (28,43; 47,92)	58,62 ^{ac} (53,68; 72,12)	$p_{1-2} = 0,0005$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-3} = 0,020$ $p_{3-4} = 0,005$
Пептидно-связанный ГОП, мкг/мг сухой ткани	21,20 (17,53; 27,92)	36,69 ^a (25,82; 37,49)	39,31 ^a (30,71; 54,17)	15,85 ^{abc} (14,39; 16,99)	$p_{1-2} = 0,026$ $p_{1-3} = 0,016$ $p_{1-4} = 0,028$ $p_{2-4} = 0,001$ $p_{3-4} = 0,001$
Белково-связанный ГОП, мкг/мг сухой ткани [5]	7,26 (4,11; 9,22)	76,29 ^a (63,59; 87,02)	56,78 ^a (53,51; 81,91)	64,01 ^a (52,74; 78,29)	$p_{1-2} = 0,0005$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$
Активность гиалуронидаз, нМ NAG/мн/мг белка [5]	0,03 (0,03; 0,04)	1,16 ^a (0,54; 1,31)	4,02 ^{ab} (3,86; 5,32)	0,21 ^{abc} (0,14; 0,43)	$p_{1-2} = 0,0008$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,008$ $p_{2-3} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,008$ $p_{3-4} = 0,0005$
Активность $\alpha 2$ -макроглобулина, ИЕ/мг белка [5]	0,007 (0,005; 0,010)	0,12 ^a (0,11; 0,26)	0,15 ^a (0,12; 0,17)	0,04 ^{abc} (0,03; 0,05)	$p_{1-2} = 0,002$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,008$ $p_{3-4} = 0,0005$

Окончание таблицы

Показатель	Группа 1 (контроль)	Группа 2 (NaCl внутри- перитонеально)	Группа 3 (ЛФДЗ внутри- перитонеально)	Группа 4 (ЛФДЗ ингаляционно)	<i>p</i>
Активность ММП, мкМ МСА/мин-мг белка [5]	0,54 (0,37; 0,61)	18,67 ^a (17,60; 28,90)	25,04 ^a (18,66; 31,67)	6,08 ^{abc} (4,97; 8,19)	$p_{1-2} = 0,0005$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,0005$ $p_{3-4} = 0,001$
ТИМП-1, нг/мг белка [5]	0,12 (0,10; 0,16)	2,64 ^a (1,77; 5,02)	3,97 ^a (2,90; 5,31)	0,85 ^{abc} (0,80; 1,23)	$p_{1-2} = 0,004$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,009$ $p_{3-4} = 0,002$
ТИМП-2, нг/мг белка [5]	0,04 (0,04; 0,06)	0,89 ^a (0,63; 1,61)	1,24 ^a (1,10; 2,02)	0,34 ^{abc} (0,26; 0,46)	$p_{1-2} = 0,002$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,009$ $p_{3-4} = 0,002$

П р и м е ч а н и е. Статистически значимые различия показателей: а – между контролем и группами 2, 3, 4; б – между группой «БЦЖ + NaCl» и группами 3, 4; с – при внутриперитонеальным и ингаляционным способами введения ЛФДЗ. ЛФДЗ – липосомальная форма декстразида, сГАГ – сульфатированные гликозаминогликаны, ГОП – гидроксипролин, ММП – матриксные металлопротеиназы, ТИМП – тканевой ингибитор металлопротеиназ.

В группе 2 повышено содержание всех фракций ГОП (свободный ГОП, пептидно-связанный ГОП и белково-связанный ГОП) относительно группы 1, что отражает высокий уровень обмена коллагенов и образование депозитов коллагена (см. таблицу).

Отмеченные изменения в содержании компонентов ПГ и фракций ГОП селезенки при инфицировании могут быть результатом изменений в системе локальной регуляции обмена ВКМ. Действительно, активность гиалуронидаз и ММП в группе 2 оказалась выше, чем в группе 1 (см. таблицу). Содержание ТИМП-1, ТИМП-2 и активность неспецифического ингибитора протеаз ($\alpha 2$ -МГ) в группе 2 также были выше, чем в группе 1.

Таким образом, через 6 мес. после внутривенного введения вакцины БЦЖ в ВКМ селезенки мышей отмечены признаки усиления обмена коллагенов и перераспределение ГАГ в сторону несульфатированных ГАГ – гиалуронана. Эти процессы обусловлены выраженной активацией ферментов (гиалуронидаз, $\alpha 2$ -МГ и ММП), а также увеличением содержания ТИМП-1 и ТИМП-2. Важно отметить, что активность деградирующих ферментов в целом увеличилась в большей степени, чем содержание ингибирующих ферментов.

В лимфоидных органах компоненты ВКМ, такие как коллагены и гликопротеины, продуцируются мезенхимальными клетками, главным образом фибробластами [8]. ВКМ селезенки представляет собой рыхлую соединительную ткань, состоящую из коллагенов (I, II, III, V и XI типа), сГАГ, таких как хондроитин сульфат, дерматан сульфат и кератан сульфат, которые в соединении с коровым белком образуют ПГ, а также некоторых гликопротеинов, таких как тенасцин-с, фибронектин и витронектин [9]. Базальные мембраны, выполняющие функцию разделения компартментов, представлены коллагеном IV типа и постоянными его спутниками – гепарансульфатными ПГ (перлекан и нидогены). Взаимодействие между компонентами ВКМ и спленоцитами придает селезенке эластичность и прочность при растяжении [9].

Результаты настоящего исследования показали активное участие ВКМ в патогенезе БЦЖ-индуцированного гранулематоза. Ремоделирование ВКМ через 6 мес. после инфицирования проявилось усилением обмена коллагенов (увеличение содержания всех фракций ГОП), увеличением уровня гиалуронана, но снижением содержания УК в ПГ. Выявленные изменения в соотношении ГАГ можно рассматривать как результат непосредственного взаимодействия *Mtb* с клетками хозяина, поскольку известно, что взаимодействие между патогеном и клетками хозяина через ГАГ является первым и важным шагом в адгезии, колонизации, инвазии, передаче, интернализации, уклонении от защитных механизмов хозяина [10].

При инфицировании происходит каскад биохимических преобразований ВКМ, приводящих к дезорганизации ВКМ и фиброзированию селезенки из-за повышенного содержания профибротических фракций ГОП и гиалуронана. Эти результаты служат подтверждением того, что общий состав ВКМ резко меняется при прогрессировании фиброза [11], в данном случае вызванного *Mtb*. При этом нарушаются взаимосвязи и взаимовлияние не только между отдельными компонентами ВКМ [12], но и между компонентами ВКМ и близлежащими клетками, что приводит к формированию патологического ремоделирования ВКМ с потерей компартментализации селезенки, в результате чего изменяются функции иммунных клеток и органа в целом. Примером может служить снижение фагоцитозной активности макрофагов селезенки человека и снижение секреции ими интерлейкина-10 при инфицировании живыми и термически убитыми *Mtb* H37Rv [13]. Недавно было продемонстрировано изменение фенотипа макрофагов при туберкулезе [14]. Авторы показали, что при инфицировании *Mtb* активированные макрофаги приобретали фенотип, аналогичный фенотипу M1, с повышенной продукцией провоспалительных молекул, активацией гликолиза и пентозофосфатного пути для реализации своих биоэнергетических и метаболических потребностей. В этих макрофагах окислительное фосфорилирование и окисление жирных кислот было подавлено. При этом макрофаги типа M2 обладали противовоспалительным действием и обеспечивали свой энергетический обмен за счет окислительного фосфорилирования и окисления жирных кислот. Оказалось, что аналогичные метаболические адаптации при *Mtb*-инфекции происходят и в других фагоцитах, включая дендритные клетки и нейтрофилы. Более подробно взаимодействие между компонентами ВКМ и иммунными клетками на внедрение микробных патогенов представлено в обзоре [15].

В настоящее время накоплено достаточно много экспериментальных данных, актуализирующих этиологическую роль гипоксии в развитии фиброза [16], которая реализуется через кислород-чувствительный комплекс гипоксия–индуцибельный фактор (HIF-1) [17]. Последний не только активирует транскрипцию индуцируемых гипоксией генов, таких как эритропоэтин, васкулоэндотелиальный фактор роста, гемоксигеназа-1 и др. [18], но и запускает экспрессию генов, участвующих в фиброгенезе: коллагенов I и IV типа, фибронектина [16]. Показано, что развивающаяся у человека при туберкулезе легких гипоксия индуцирует повышенную экспрессию HIF-1 α эпителиоидными макрофагами и многоядерными гигантскими клетками, не оказывая влияния на репликацию *Mtb* [19]. При этом HIF-1 α и нуклеарный фактор kB обеспечивают повышенную активность ММП-1. Не исключено, что отмеченная активация ММП и увеличение профибротических фракций ГОП и свободного ГОП в селезенке мышей группы 2 обусловлены развивающейся гипоксией тканей. Это предположение подкрепляется данными о разной степени стабилизации (в зависимости от выраженности фиброза) HIF-1 α и HIF-2 α в клетках пациентов с туберкулезом [20].

Приведенные выше изменения в ВКМ селезенки инфицированных мышей (см. таблицу) происходили при активации системы регуляции метаболизма ВКМ (увеличение активности ММП, гиалуронидаз и α 2-МГ, содержания ТИМП-1 и ТИМП-2), т. е. инфицирование *Mtb* активирует не только ферменты, деградирующие компоненты ВКМ (ММП и гиалуронидазы), но и ингибиторы этих ферментов и других протеаз (ТИМП-1, ТИМП-2 и α 2-МГ). О повышении уровня α 2-МГ при туберкулезной инфекции сообщалось ранее [21].

Принято считать, что ММП являются основными ферментами, ответственными за синтез и деградацию компонентов ВКМ. Однако из обзора [12] следует, что субстратом для них могут быть и белки нематриксного происхождения: хемокины, цитокины, рецепторы. Многообразие субстратов существенно расширяет влияние ММП на развитие и исход воспалительных и иммунных процессов, а значит, и на эффективность проводимой терапии.

Таким образом, через 6 мес. после инфицирования мышей вакциной БЦЖ в селезенке мышей наблюдали изменения в ВКМ, которые выражались в ускорении обмена коллагенов с фиброзированием органа, а также в изменении структуры ПГ, увеличении уровня гиалуронана. Эти изменения связаны с активацией деградирующих ферментов (ММП, гиалуронидазы) и увеличением содержания и активности ингибирующих ферментов (ТИМП-1, ТИМП-2 и α 2-МГ).

Компоненты ВКМ селезенки при введении ЛФДЗ мышам с БЦЖ-гранулематозом. При патологических состояниях терапевтического эффекта можно добиться, воздействуя на конкретные

компоненты ВКМ, которые участвуют в патогенезе заболевания [22]. Поскольку ранее было показано, что через 3 мес. после инфицирования изменения ВКМ печени и легких мышей зависели от способа введения ЛФДЗ [4], осуществляли внутриперитонеальное и ингаляционное введение композиции.

В группе 3 содержание УК и ГАЛ было выше в 39 в 9 раз соответственно, а в группе 4 – в 11 и 8 раз выше, чем в группе 2 (см. таблицу). Содержание сГАГ и белка в группах 3 и 4 не отличалось от аналогичных показателей в группе 2. Содержание гиалуронана (см. таблицу) в обеих группах было снижено по сравнению с данными группы 2, но большее (5-кратное) снижение наблюдалось в группе 4.

В группе 3 содержание свободного ГОП по сравнению с данными группы 2 уменьшилось в 1,4 раза (см. таблицу), но содержание пептидно-связанного и белково-связанного ГОП сохранялось на уровне показателей группы 2, что свидетельствует о снижении интенсивности деградации коллагенов при условии сохранности уровня синтетических процессов, как у инфицированных мышей.

В группе 4 содержание свободного и белково-связанного ГОП не отличалось от соответствующих данных группы 2 (см. таблицу), тогда как содержание пептидно-связанного ГОП было снижено в 2,3 раза. Такое соотношение фракций ГОП свидетельствует о сохраняющейся высокой интенсивности деградации коллагенов (как при инфицировании) и о частичном ограничении их синтеза при ингаляционном введении ЛФДЗ.

В группе 3 введение ЛФДЗ не повлияло на активность ММП, $\alpha 2$ -МГ, содержание ТИМП-1 и ТИМП-2: эти показатели оставались на уровне значений в группе 2 (табл. 1). В группе 4 активность ММП и $\alpha 2$ -МГ по сравнению с данными группы 2 оказалась сниженной в 3 раза, содержание ТИМП-1 – в 3,1, ТИМП-2 – в 2,6 раза (см. таблицу). В группе 3 активность гиалуронидаз была существенно увеличена, тогда как в группе 4 она была ниже, чем в группе 2.

Разница между показателями групп 3 и 4 выявлена только в содержании гиалуронана и УК: они были ниже после ингаляционного введения ЛФДЗ, чем после внутриперитонеального. Кроме того, определено высокое содержание свободного ГОП и низкое содержание пептидно-связанного ГОП в группе 4 по сравнению с данными группы 3 (см. таблицу), что свидетельствует о преобладании деградации коллагенов и меньшем их синтезе при ингаляционном введении, чем при внутриперитонеальном. В группе 3 активность гиалуронидаз была существенно выше, чем в группе 4.

Таким образом, введение ЛФДЗ инфицированным мышам привело к существенным изменениям в метаболизме ВКМ селезенки, характер которых зависел от способа введения композиции. Внутриперитонеальное введение ЛФДЗ приводило к снижению интенсивности деградации коллагенов и не влияло на их продукцию, оставаясь на уровне показателей группы БЦЖ. Значимые изменения в структуре ПГ проявились в повышении уровней УК и ГАЛ при отсутствии различий в содержании сГАГ и белка. Отмечено снижение уровня гиалуронана при обоих способах введения, однако при ингаляционном введении ЛФДЗ его снижение было более значимым. Как при внутриперитонеальном, так и при ингаляционном введении ЛФДЗ увеличивалось содержание УК и ГАЛ при отсутствии различий в содержании сГАГ и белка.

Внутриперитонеальное введение ЛФДЗ не вызывало значимых изменений в активности ММП, $\alpha 2$ -МГ и в содержании ингибиторов ММП – ТИМП-1, ТИМП-2 у инфицированных мышей. Исключение составила активность гиалуронидаз, которая при внутриперитонеальном введении ЛФДЗ увеличилась, но при ингаляционном введении оказалась ниже, чем в группе БЦЖ. Ингаляционное введение ЛФДЗ приводило к снижению активности ММП и содержания ингибиторов протеаз, но тем не менее эти показатели оставались выше, чем в группе контроля.

Введение ЛФДЗ через 6 мес. после инфицирования мышей *Mtb* в течение 3 мес. привело к изменению ВКМ, ремоделированного патогеном (вариант патологического ремоделирования). При этом характер изменений зависел от способа доставки композиции (см. таблицу). Ранее было показано, что включение противотуберкулезного средства рифампицина и изониазида в липосомы (для придания им корпускулярных свойств) наряду с липофильностью увеличивает тропность средства к лимфоидной ткани [23]. Лимфотропность регламентировалась способом введения. При ингаляционном введении липосомальной формы наиболее полно реализовались основные

положительные свойства липосом (депонирование, пролонгация, протекция к инактивирующим агентам). Ультразвуковая ингаляционная терапия с использованием лекарственной формы комплекса химиопрепаратов, заключенных в фосфатидилхолиновые липосомы, продемонстрировала высокую эффективность в лечении экспериментального туберкулеза легких у мышей [23].

Терапевтический эффект от использования ЛФДЗ, как мы предполагали, будет определяться действием его компонентов. Основу композиции составляет изониазид – традиционно используемое противотуберкулезное средство первого ряда, которое характеризуется малой бактериостатической активностью в отношении внутриклеточно персистирующих форм *Mtb* и проявляет высокий профиброгенный эффект [24]. Антибактериальное действие конъюгата изониазида с окисленным декстраном (60 кДа) усиливалось как в отношении *Mtb*, циркулирующих в крови, так и в отношении *Mtb*, персистирующих в макрофагах гранулем, отличающихся пролонгированностью действия (до 7 сут) и низкой общей токсичностью [24]. Заключение декстразида в липосомы (0,20–0,25 мкм) обеспечивает снижение гепатотоксичности, но при этом увеличивает время действия из-за корпускулярности ЛФДЗ на микобактерии в фагосомах и фаголизосомах макрофагов. Также было показано, что использование липосомальных форм лекарственных препаратов обеспечивает более длительное удержание средства в целевом месте [25].

Следует отметить, что препараты на основе липосом широко используются в диагностике и лечении различных патологических состояний [26]. Особенностью настоящей работы является использование противотуберкулезной композиции декстразида в липосомальной форме в периоде хронического БЦЖ-индуцированного воспаления у мышей, которое характеризуется наличием выраженных фибротических осложнений.

Ранее нами было показано, что ингаляционное введение ЛФДЗ на более раннем сроке после инфицирования мышей *Mtb* в составе вакцины БЦЖ (через 3 мес. после инфицирования) в течение 2 мес. приводило к снижению фибротических проявлений в печени и легких [4]. При этом антифибротический эффект реализовался в органах разными механизмами и в разной степени. В легких это достигалось за счет увеличения антифибротической фракции ГОП и снижения профибротических фракций ГОП, что свидетельствует об усилении деградации коллагенов и снижении их синтеза относительно инфицированных мышей. В печени изменения были менее значимы и выражались в снижении как антифибротической фракции ГОП, так и его профибротических фракций. Внутривентральное введение ЛФДЗ не вызвало значимых различий в содержании фракций ГОП в обоих органах.

Выбранный период (3 мес. после инфицирования) был условно обозначен нами как период стабилизации, так как содержание ГОП было снижено по сравнению с таковым в 1 и 6 мес., а фибропластическая активность фибробластов в интерстиции легких – по сравнению с их активностью в 6 мес. [27]. В настоящем исследовании ЛФДЗ вводили через 6 мес. после инфицирования в течение 3 мес. – в период хронического БЦЖ-гранулематоза, когда максимально высокими оказались содержание ГОП, фибропластическая активность фибробластов и их численность в гранулемах и интерстициальной ткани легких. Видимо, такая же динамика содержания ГОП и фибропластической активности фибробластов была и в селезенке.

В представленной работе при ингаляционном способе введения ЛФДЗ через 6 мес. после инфицирования мышей был снижен показатель синтеза коллагенов при высоком уровне показателя деградации белка (соответствующее уровню группы БЦЖ) при снижении активности ММП и гиалуронидаз относительно аналогичных показателей у мышей с БЦЖ-воспалением (см. таблицу). Поскольку ингибирование ММП рассматривается как реальная цель в качестве дополнительной терапии для ограничения иммунопатологии при туберкулезе [28], следует с огромной осторожностью говорить о возможности достижения этой цели, так как приведенные показатели после 3 мес. введения ЛФДЗ не достигли значений группы контроля. Сниженными, но не достигшими значений группы контроля оказались и другие показатели (ТИМП-1, ТИМП-2 и $\alpha 2$ -МГ), что свидетельствует лишь о подавлении активности воспалительно-деструктивных процессов.

Вопрос об ингибировании ММП как цели химиотерапии туберкулеза можно отнести к дискуссионному. Здесь не учитывается, что субстратами для ММП являются не только компоненты ВКМ, но, как отмечалось выше [12], и хемокины, цитокины, факторы роста, рецепторы и другие

молекулы, которые определяют развитие и исход не только воспалительных и иммунных, но и многих других процессов. Многосторонняя связь ММП с другими биологически активными соединениями, участвующими в регуляции обмена ВКМ, в некоторой степени объясняет неудачи с использованием ингибиторов ММП в качестве потенциальных инструментов в терапии ряда заболеваний [29].

Содержание и активность ММП могут регулироваться ТИМП, в связи с чем соотношение ММП/ТИМП часто используют для определения степени деградации компонентов ВКМ и ремоделирования тканей [30]. В нашем исследовании это соотношение было минимальным (3,4) в группе контроля и повышенным в опытных группах (в группе 2 – 5,3, в группе 3 – 4,8, группе 4 – 5,1).

Таким образом, введение ЛФДЗ мышам в течение 3 мес. через 6 мес. после их инфицирования *Mtb* вакцины БЦЖ приводило к изменению метаболизма ВКМ селезенки. Внутривентрикулярное введение ЛФДЗ вызывало снижение интенсивности деградации коллагенов, но не оказывало влияния на их продукцию, которая оставалась на уровне группы БЦЖ. Ингаляционное введение ЛФДЗ поддерживало на высоком уровне интенсивность деградации коллагенов, соответствующую уровню группы БЦЖ, но снижало содержание профибротической фракции ГОП и активность всех ферментов. Независимо от способа введения ЛФДЗ в селезенке мышей снижалось содержание гиалуронана (особенно при ингаляционном введении), увеличивалось содержание УК и ГАЛ в ПГ, при этом уровни сГАГ и белка оставались на уровне группы БЦЖ.

Введение ЛФДЗ инфицированным мышам привело к существенным изменениям в метаболизме ВКМ селезенки, характер которых был связан со способом введения композиции.

Заключение. На модели БЦЖ-индуцированного туберкулезного воспаления у мышей продемонстрированы изменения метаболизма ВКМ селезенки. Через 6 мес. после инфицирования (период хронического БЦЖ-индуцированного воспаления) в селезенке отмечено увеличение содержания ГАЛ, гиалуронана, но снижение уровней УК, сГАГ в ПГ, а также усиление обмена коллагенов с развитием фиброза, активация деградирующих ферментов (ММП и гиалуронидазы), увеличение содержания специфических тканевых ингибиторов ММП (ТИМП-1 и ТИМП-2) и активности неспецифического ингибитора протеаз ($\alpha 2$ -МГ).

Инфицированным мышам в течение 3 мес. двумя способами вводили противотуберкулезную композицию – ЛФДЗ. После внутривентрикулярного введения ЛФДЗ снижалось содержание свободного ГОП, при этом активность ММП и ингибиторы протеаз оставались на уровне показателей в группе инфицированных мышей. После ингаляционного введения ЛФДЗ наблюдали снижение содержания пептидно-связанного ГОП, активности ферментов, регулирующих обмен ВКМ (снижение активности ММП, гиалуронидаз и $\alpha 2$ -МГ, содержания ТИМП-1 и ТИМП-2). Независимо от способа введения ЛФДЗ увеличивалось содержание УК и ГАЛ в ПГ, но снижался уровень гиалуронана, особенно при ингаляционном введении, что свидетельствовало о снижении выраженности фиброза селезенки.

Сравнение эффектов двух способов введения ЛФДЗ продемонстрировало значимое влияние композиции при ингаляционном способе, которое проявилось в большем снижении содержания гиалуронана, УК, усилении деградации коллагенов при снижении их синтеза, ингибировании активности ММП, гиалуронидаз, $\alpha 2$ -МГ и снижении уровня ТИМП. Эти различия свидетельствуют об уменьшении выраженности фиброза, активности воспалительно-деструктивных процессов и гиалуронан-связанных реакций ВКМ при ингаляционном введении ЛФДЗ по сравнению с внутривентрикулярным.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Авторы выражают искреннюю благодарность академику РАН В. А. Шкурупию за конструктивные замечания при подготовке рукописи.

Acknowledgements. This work was supported within the framework of the state assignment No. 122032300155-4 using the equipment of the Center for Collective Use “Modern Optical Systems” FRC FTM.

The authors express their sincere gratitude to Academician of the Russian Academy of Sciences V. A. Shkurupiy for constructive comments during the preparation of the manuscript.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Global tuberculosis report 2020 / World Health Organization. – Geneva: World Health Organization, 2020. – 232 p.
2. Opportunities for overcoming *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance: emerging mycobacterial targets and host-directed therapy / E. Torfs [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – Vol. 20, N 12. – Art. 2868. <https://doi.org/10.3390/ijms20122868>
3. Михайлова, Л. П. Сравнительная характеристика цитокинового профиля и морфологических проявлений гранулематозного воспаления у мышей BALB/c и C57BL/6 / Л. П. Михайлова, О. В. Макарова // Иммунология. – 2005. – № 2. – С. 95–98.
4. Antifibrotic effect of liposome-encapsulated composition of oxidized dextran and isonicotinic acid hydrazide in mice with BCG-induced granulomatosis depends on administration route / L. B. Kim [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2020. – Vol. 169, N 1. – P. 71–76. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04827-4>
5. Ким, Л. Б. Роль перлекана в ремоделировании внеклеточного матрикса печени, легких и селезенки мышей после введения вакцины БЦЖ и липосомальной формы декстразида / Л. Б. Ким, А. Н. Путятин, Г. С. Русских // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2022. – № 11. – С. 204–210.
6. Русова, Т. В. Биохимические изменения протеогликанов суставного хряща при прогрессирующем остеоартрозе / Т. В. Русова, В. С. Байтов // Бюл. Сиб. отд-ния Рос. акад. мед. наук. – 2008. – Т. 28, № 2. – С. 25–29.
7. Путятин, А. Н. Способ определения фракций гидроксипролина в биологическом материале: пат. Ru 2735375 C1 / А. Н. Путятин, Г. С. Русских, Л. Б. Ким. – Оpubл. 30.10.2020.
8. Morgado, F. N. Infectious diseases and the lymphoid extracellular matrix remodeling: a focus on conduit system / F. N. Morgado, A. V. A. da Silva, R. Porrozzzi // Cells. – 2020. – Vol. 9, N 3. – Art. 725. <https://doi.org/10.3390/cells9030725>
9. The extracellular matrix of the spleen as a potential organizer of immune cell compartments / Z. Lokmic [et al.] // Semin. Immunol. – 2008. – Vol. 20, N 1. – P. 4–13. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.12.009>
10. Glycosaminoglycans in infectious disease / E. Kamhi [et al.] // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. – 2013. – Vol. 88, N 4. – P. 928–943. <https://doi.org/10.1111/brv.12034>
11. The good and the bad collagens of fibrosis – Their role in signaling and organ function / M. A. Karsdal [et al.] // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2017. – Vol. 121. – P. 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.07.014>
12. Tocchi, A. Functional interactions between matrix metalloproteinases and glycosaminoglycans / A. Tocchi, W. C. Parks // FEBS J. – 2013. – Vol. 280, N 10. – P. 2332–2341. <https://doi.org/10.1111/febs.12198>
13. Human splenic macrophages as a model for *in vitro* infection with *Mycobacterium tuberculosis* / J. Henao [et al.] // Tuberculosis (Edinb.). – 2007. – Vol. 87, N 6. – P. 509–517. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2007.07.002>
14. Immunometabolism of phagocytes during *Mycobacterium tuberculosis* infection / R. Kumar [et al.] // Front Mol. Biosci. – 2019. – Vol. 6. – Art. 105. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00105>
15. Tomlin, H. A complex interplay between the extracellular matrix and the innate immune response to microbial pathogens / H. Tomlin, A. M. Piccinini // Immunology. – 2018. – Vol. 155, N 2. – P. 186–201. <https://doi.org/10.1111/imm.12972>
16. Hypoxia and transforming growth factor- β 1 act independently to increase extracellular matrix production by placental fibroblasts / C.-P. Chen [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – Vol. 90, N 2. – P. 1083–1090. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0803>
17. Hypoxia regulates the expression of extracellular matrix associated proteins in equine dermal fibroblasts via HIF1 / K. Deschene [et al.] // J. Dermatol. Sci. – 2012. – Vol. 65, N 1. – P. 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2011.09.006>
18. Structural and functional analysis of hypoxia-inducible factor 1 / G. L. Semenza [et al.] // Kidney Int. – 1997. – Vol. 51, N 2. – P. 553–555. <https://doi.org/10.1038/ki.1997.77>
19. Hypoxia and tissue destruction in pulmonary TB / M. Belton [et al.] // Thorax. – 2016. – Vol. 71, N 12. – P. 1145–1153. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2015-207402>
20. *Mycobacterium tuberculosis* load in host cells and the antibacterial activity of alveolar macrophages are linked and differentially regulated in various lung lesions of patients with pulmonary tuberculosis / E. G. Ufimtseva [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, N 7. – P. 3452. <https://doi.org/10.3390/ijms22073452>
21. Altered systemic levels of acute phase proteins in tuberculous lymphadenitis and modulation after treatment / G. R. Kathamuthu [et al.] // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, N 5. – P. e0233426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233426>
22. Ahmad, V. Prospective of extracellular matrix and drug correlations in disease management / V. Ahmad // Asian J. Pharm. Sci. – 2021. – Vol. 16, N 2. – P. 147–160. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2020.06.007>
23. Способ лечения туберкулеза легких: пат. Ru 2122855 C1 / Ю. Н. Курунов, В. А. Краснов, А. В. Свистельник, Н. Н. Яковченко. – Оpubл. 10.12.1998.
24. Конъюгат изониазид-декстран и его применение: пат. Ru 2163120 C1 / В. А. Шкурупий [и др.]. – Оpubл. 20.02.2001.
25. Pulmonary delivery of liposomal dry powder inhaler formulation for effective treatment of idiopathic pulmonary fibrosis / S. Chennakesavulu [et al.] // Asian J. Pharm. Sci. – 2018. – Vol. 13, N 1. – P. 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.005>
26. Michel, R. Experimental aspects of colloidal interactions in mixed systems of liposome and inorganic nanoparticle and their applications / R. Michel, M. Gradzielski // Int. J. Mol. Sci. – 2012. – Vol. 13, N 9. – P. 11610–11642. <https://doi.org/10.3390/ijms130911610>
27. 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>
28. Elkington, P. T. Tuberculosis immunopathology: the neglected role of extracellular matrix destruction / P. T. Elkington, J. M. D'Armiento, J. S. Friedland // Sci. Transl. Med. – 2011. – Vol. 3, N 71. – P. 71ps6. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001847>

29. Next generation matrix metalloproteinase inhibitors – novel strategies bring new prospects / M. Levin [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res.* – 2017. – Vol. 1864, N 11, pt. A. – P. 1927–1939. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.009>
30. Cui, N. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases / N. Cui, M. Hu, R. A. Khalil // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* – 2017. – Vol. 147. – P. 1–73. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>

References

1. *World Health Organization. Global tuberculosis report 2020*. Geneva, World Health Organization Publ., 2020.
2. Torfs E., Pillar T., Cos P., Cappoen D. Opportunities for overcoming *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance: emerging mycobacterial targets and host-directed therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol. 20, no. 12, art. 2868. <https://doi.org/10.3390/ijms20122868>
3. Mikhailova L. P., Makarova O. V. Comparative descriptions on the cytokines profile and of morphological signs of granulomatous inflammation in BALB/c and C57BL/6 mice. *Immunologiya* [Immunology], 2005, no. 2, pp. 95–98 (in Russian).
4. Kim L. B., Putyatina A. N., Russkikh G. S., Shkurupy V. A. Antifibrotic effect of liposome-encapsulated composition of oxidized dextran and isonicotinic acid hydrazide in mice with BCG-induced granulomatosis depends on administration route. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2020, vol. 169, no. 1, pp. 71–76. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04827-4>
5. Kim L. B., Putyatina A. N., Russkikh G. S. The role of perlecan in remodeling the extracellular matrix of the liver, lungs and spleen of mice after administration of BCG vaccine and the liposome-encapsulated dextrazide. *Ekspiermental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* [Experimental and clinical gastroenterology], 2022, no. 11, pp. 204–210 (in Russian).
6. Rusova T. V., Baitov V. S. Biochemical changes in proteoglycans of articulate cartilage in progressive osteoarthritis. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk* [Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences], 2008, vol. 28, no. 2, pp. 25–29 (in Russian).
7. Putyatina A. N., Russkikh G. S., Kim L. B. Method of determining fractions of hydroxyproline in biological material: patent. Publ. 30.10.2020 (in Russian).
8. Morgado F. N., da Silva A. V. A., Porrozzzi R. Infectious diseases and the lymphoid extracellular matrix remodeling: a focus on conduit system. *Cells*, 2020, vol. 9, no. 3, art. 725. <https://doi.org/10.3390/cells9030725>
9. Lokmic Z., Lämmermann T., Sixt M., Cardell S., Hallmann R., Sorokin L. The extracellular matrix of the spleen as a potential organizer of immune cell compartments. *Seminars in Immunology*, 2008, vol. 20, no. 1, pp. 4–13. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.12.009>
10. Kamhi E., Joo E. J., Dordick J. S., Linhardt R. J. Glycosaminoglycans in infectious disease. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 2013, vol. 88, no. 4, pp. 928–943. <https://doi.org/10.1111/brv.12034>
11. Karsdal M. A., Nielsen S. H., Leeming D. J., Langholm L. L., Nielsen M. J., Manon-Jensen T. [et al.]. The good and the bad collagens of fibrosis – Their role in signaling and organ function. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2017, vol. 121, pp. 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.07.014>
12. Tocchi A., Parks W. C. Functional interactions between matrix metalloproteinases and glycosaminoglycans. *FEBS Journal*, 2013, vol. 280, no. 10, pp. 2332–2341. <https://doi.org/10.1111/febs.12198>
13. Henao J., Sánchez D., Muñoz C. H., Mejía N., Arias M. A., García L. F., Barrera L. F. Human splenic macrophages as a model for *in vitro* infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb.)*, 2007, vol. 87, no. 6, pp. 509–517. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2007.07.002>
14. Kumar R., Singh P., Kolloli A., Shi L., Bushkin Y., Tyagi S., Subbian S. Immunometabolism of phagocytes during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2019, vol. 6, art. 105. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00105>
15. Tomlin H., Piccinini A. M. A complex interplay between the extracellular matrix and the innate immune response to microbial pathogens. *Immunology*, 2018, vol. 155, no. 2, pp. 186–201. <https://doi.org/10.1111/imm.12972>
16. Chen C.-P., Yang Y. C., Su T. H., Chen C.-Y., Aplin J. D. Hypoxia and transforming growth factor- β 1 act independently to increase extracellular matrix production by placental fibroblasts. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2005, vol. 90, no. 2, pp. 1083–1090. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0803>
17. Deschene K., Céleste C., Boerboom D., Theoret C. L. Hypoxia regulates the expression of extracellular matrix associated proteins in equine dermal fibroblasts via HIF1. *Journal of Dermatological Science*, 2012, vol. 65, no. 1, pp. 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2011.09.006>
18. Semenza G. L., Agani F., Booth G., Forsythe J., Iyer N., Jiang B. H., Leung S., Roe R., Wiener C., Yu A. Structural and functional analysis of hypoxia-inducible factor 1. *Kidney International*, 1997, vol. 51, no. 2, pp. 553–555. <https://doi.org/10.1038/ki.1997.77>
19. Belton M., Brilha S., Manavaki R., Mauri F., Nijran K., Hong Y. T. [et al.]. Hypoxia and tissue destruction in pulmonary TB. *Thorax*, 2016, vol. 71, no. 12, pp. 1145–1153. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2015-207402>
20. Ufimtseva E. G., Ereemeeva N. I., Umpeleva T. V., Vakhrusheva D. V., Skorniyakov S. N. *Mycobacterium tuberculosis* load in host cells and the antibacterial activity of alveolar macrophages are linked and differentially regulated in various lung lesions of patients with pulmonary tuberculosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 7, p. 3452. <https://doi.org/10.3390/ijms22073452>
21. Kathamuthu G. R., Moideen K., Kumar N. P., Sridhar R., Baskaran D., Babu S. Altered systemic levels of acute phase proteins in tuberculous lymphadenitis and modulation after treatment. *PLoS One*, 2020, vol. 15, no. 5, p. e0233426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233426>

22. Ahmad V. Prospective of extracellular matrix and drug correlations in disease management. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021, vol. 16, no. 2, pp. 147–160. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2020.06.007>
23. Kurunov Ju. N., Krasnov V. A., Svistel'nik A. V., Jakovchenko N. N. *Method of treatment of patients with lung tuberculosis: patent*. Publ. 10.12.1998 (in Russian).
24. Shkurupij V. A., Kurunov Ju. N., Pupyshev A. B., Panasenko S. G., Kozjaev M. A., Shorina G. N. *Isoniazid-dextran conjugate and application thereof: patent*. Publ. 20.02.2001 (in Russian).
25. Chennakesavulu S., Mishra A., Sudheer A., Sowmya C., Suryaprakash Reddy C., Bhargav E. Pulmonary delivery of liposomal dry powder inhaler formulation for effective treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, vol. 13, no. 1, pp. 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.005>
26. Michel R., Gradzielski M. Experimental aspects of colloidal interactions in mixed systems of liposome and inorganic nanoparticle and their applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, vol. 13, no. 9, pp. 11610–11642. <https://doi.org/10.3390/ijms130911610>
27. 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>
28. Elkington P. T., D'Armiento J. M., Friedland J. S. Tuberculosis immunopathology: the neglected role of extracellular matrix destruction. *Science Translational Medicine*, 2011, vol. 3, no. 71, p. 71ps6. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001847>
29. Levin M., Udi Y., Solomonov I., Sagi I. Next generation matrix metalloproteinase inhibitors – novel strategies bring new prospects. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*, 2017, vol. 1864, no. 11, pt. A, pp. 1927–1939. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.009>
30. Cui N., Hu M., Khalil R. A. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 2017, vol. 147, pp. 1–73. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>

Информация об авторах

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

Путятина 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: anputyatina@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

Троицкий Александр Васильевич – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, руководитель лаборатории. Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ул. Тимакова, 2, 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация). <http://orcid.org/0000-0001-9407-5377>. E-mail: pharm2008@yandex.ru

Information about the authors

Lena B. Kim – D. Sc. (Med.), Chief Researcher, Head of the group. Federal 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

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: anputyatina@frcftm.ru

Galina S. Russkikh – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Federal 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

Aleksandr V. Troitskij – Ph. D. (Med.), Leading Researcher, Head of the Laboratory. Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (2, Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). <http://orcid.org/0000-0001-9407-5377>. E-mail: pharm2008@yandex.ru