



Особенности ремоделирования внеклеточного матрикса печени и легких мышей с БЦЖ-гранулематозом в периоде хронического воспаления в зависимости от способа введения липосомальной формы декстразида

Л. Б. КИМ, А. Н. ПУТЯТИНА, Г. С. РУССКИХ, В. А. ШКУРУПИЙ

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель: изучить влияние липосомальной формы декстразида (ЛФДЗ) на ремоделирование внеклеточного матрикса органов мышей в периоде хронического БЦЖ-гранулематоза и эффекты ЛФДЗ на этот процесс в зависимости от способа введения.

Материалы и методы. Исследовали печень и легкие мышей с БЦЖ-гранулематозом при разных способах введения ЛФДЗ (интраперитонеально и ингаляционно). Оценивали содержание гликозаминогликанов, фракции гидроксипролина, активность матриксных металлопротеиназ (ММП), гиалуронидаз и $\alpha 2$ -макроглобулина, содержание тканевых ингибиторов ММП (ТИМП-1 и -2).

Результаты исследования. Введение ЛФДЗ мышам, инфицированным вакциной БЦЖ, в периоде хронического гранулематоза с выраженным фиброзом (через 6 мес. после инфицирования в течение 3 мес.) привело к усилению процесса деградации коллагенов в печени. В легких, наряду с усилением процесса деградации коллагенов, наблюдали снижение их синтеза. Этим процессам способствовали, по-видимому, подавление активности $\alpha 2$ -макроглобулина и снижение содержания ТИМП-1 и -2. В печени при интраперитонеальном введении ЛФДЗ наблюдали признаки ослабления фиброгенеза и фибролиза относительно данных при ингаляционном введении. В легких различий в содержании фракций гидроксипролина в зависимости от способа введения ЛФДЗ не отмечено. Таким образом, введение ЛФДЗ мышам приводило к снижению выраженности фиброза, при этом механизмы фибролиза в легких и печени различались.

Ключевые слова: липосомальная форма декстразида (ЛФДЗ), фиброз, гидроксипролин, гликозаминогликаны, ММП/ТИМП, $\alpha 2$ -макроглобулин, БЦЖ-гранулематоз, печень и легкие мышей

Для цитирования: Ким Л. Б., Путятин А. Н., Русских Г. С., Шкурупий В. А. Особенности ремоделирования внеклеточного матрикса печени и легких мышей с БЦЖ-гранулематозом в периоде хронического воспаления в зависимости от способа введения липосомальной формы декстразида // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2021. – Т. 99, № 8. – С. 40-46. <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-8-40-46>

Specific Parameters of Extracellular Matrix Remodeling of Liver and Lungs of Mice with BCG Granulomatosis during Chronic Inflammation Depending on the Method of Administration of Liposomal Oxidized Dextran

L. B. KIM, A. N. PUTYATINA, G. S. RUSSKIKH, V. A. SHKURUPY

Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

The objective: to study the effect of liposomal oxidized dextran (LOD) on remodeling of the extracellular matrix of organs of mice during the period of chronic BCG granulomatosis and effects of LOD on this process depending on the route of administration.

Subjects and Methods. The liver and lungs of mice with BCG granulomatosis were studied using different methods of LOD administration (intraperitoneally and by inhalation). The content of glycosaminoglycans, hydroxyproline fraction, the activity of matrix metalloproteinases (MMPs), hyaluronidases and $\alpha 2$ -macroglobulin, and the content of tissue inhibitors of MMPs (TIMP-1 and -2) were evaluated.

Results. The administration of LOD to mice infected with the BCG vaccine suffering from chronic granulomatosis with severe fibrosis (6 months after infection for 3 months) resulted in the aggravation of collagen degradation in the liver. In the lungs, along with increased collagen degradation, decreased collagen synthesis was observed. It was apparently due to suppressed activity of $\alpha 2$ -macroglobulin and decreased content of TIMP-1 and -2. In the liver, with intraperitoneal administration of LOD, signs of suppressed fibrogenesis and fibrolysis were observed versus the data obtained for inhalation administration. There were no differences in the content of hydroxyproline fractions in the lungs depending on the method of LOD administration. Thus, administration of LOD to mice led to lower severity of fibrosis while the mechanisms of fibrolysis in the lungs and liver differed.

Key words: liposomal oxidized dextran (LOD), fibrosis, hydroxyproline, glycosaminoglycans, MMP/TIMP, $\alpha 2$ -macroglobulin, BCG granulomatosis, liver and lungs of mice

For citations: Kim L.B., Putyatina A.N., Russkikh G.S., Shkurupy V.A. Specific parameters of extracellular matrix remodeling of liver and lungs of mice with BCG granulomatosis during chronic inflammation depending on the method of administration of liposomal oxidized dextran. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2021, Vol. 99, no. 8, P. 40-46. (In Russ.) <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-8-40-46>

Для корреспонденции:
Ким Лена Борисовна
E-mail: lenkim@centercem.ru

Correspondence:
Lena B. Kim
Email: lenkim@centercem.ru

Известно, что сложная структура и плохая васкуляризация очагов туберкулезной инфекции в организме больных ухудшают проникновение в них лекарственных средств, затрудняя взаимодействие с

возбудителем заболевания и, соответственно, лечебный процесс [18]. Также показано, что способ инфицирования микобактерией туберкулеза (МТБ) определяет характер ремоделирования внеклеточного

матрикса (ВКМ) и интенсивность фиброгенеза [2]. Недавно продемонстрировано в эксперименте на мышах (через 3 мес. после их инфицирования МБТ), что от способа введения композиции декстразида (гидразид изоникотиновой кислоты (ГИНК) с окисленным декстраном) в липосомальной форме (ЛФДЗ) зависит характер обмена коллагенов [1]. До последнего времени не изучены механизмы лечебного эффекта ЛФДЗ в периоде хронического БЦЖ-гранулематоза, который отличается выраженными фибротическими изменениями органов [5, 6].

Цель исследования: изучить влияние ЛФДЗ на ремоделирование ВКМ органов мышей в периоде хронического БЦЖ-индуцированного гранулематоза и выявить эффекты ЛФДЗ на этот процесс в зависимости от способа введения.

Материалы и методы

Исследование проводили на двухмесячных мышах-самцах линии BALB/c массой 18-22 г. БЦЖ-индуцированный гранулематоз моделировали однократным введением в ретроорбитальный синус 0,5 мг микробных тел *Mycobacterium bovis* BCG в 0,2 мл 0,85%-ного раствора NaCl. Животных содержали в стандартных лабораторных условиях. Через 6 мес. после инфицирования (в периоде хронического гранулематоза) животным на протяжении 3 мес. (дважды в неделю) вводили по 50 мкл 2%-ного раствора ЛФДЗ: фосфатидилхолиновые липосомы размером 0,20-0,25 мкм с декстразидами (конъюгат окисленного декстрана 40 кДа и ГИНК в дозе 14 мг/кг). ЛФДЗ получена в лаборатории биосовместимых наночастиц, наноматериалов и средств адресной доставки ФИЦ ФТМ и представлена для настоящего исследования. Животные были разделены на 3 группы по 5 особей в каждой. Мышам 1-й группы (группа сравнения) вводили NaCl (интраперитонеально), 2-й – ЛФДЗ (ингаляционно), 3-й – ЛФДЗ (интраперитонеально). Ингаляционное введение проводили с помощью небулайзера Comr Air NE-C28-Ru (Omron, Китай), который помещали в камеру с мышами для распыления композиции.

Животных из эксперимента выводили под легким эфирным наркозом путем дислокации шейных позвонков с последующей декапитацией. В гомогенатах печени и легких мышей определяли содержание сульфатированных гликозаминогликанов (сГАГ) согласно описанию [2], гидроксипролина (ГОП) и его фракции: общий (обГОП), свободный (свГОП), пептидно-связанный (пепГОП), белково-связанный (белГОП) [4]. Оценивали гиалуронидазную активность [15], активность α 2-макроглобулина (α 2-МГ) [8] с использованием хромогенного субстрата N- α -бензоил-L-аргинин этилового эфира гидрохлорида. Активность матриксных металлопротеиназ (ММП) измеряли спектрофлуориметрическим методом с субстратом FS-6 [12].

Содержание гиалуронана (MyBioSource, Inc., Germany), тканевых ингибиторов ММП (ТИМП-1 и -2, Invitrogen, США) определяли с помощью набора ИФА для мышей. Измерения оптической плотности проводили на микропланшетном ридере Stat Fax-2100 (Awareness Technology, Inc., США). Содержание гиалуронана, ТИМП-1 и -2, а также активность ММП, α 2-МГ и гиалуронидаз в печени и легких мышей пересчитывали на содержание белка, который оценивали общеизвестным методом Брэдфорда.

Исследование одобрено биоэтическим комитетом ФИЦ ФТМ и выполнено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica v. 10 (StatSoft, Inc., США). При сравнении различий между группами применяли критерий Манна – Уитни или ANOVA по Краскелу – Уоллису. Результаты исследования представляли как среднеарифметическую величину и ошибку средней ($M \pm m$). Статистически значимыми принимали различия между сравниваемыми средними величинами при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Печень. После трехмесячного введения ЛФДЗ мышам с БЦЖ-индуцированным гранулематозом установлено снижение содержания обГОП и его фракций (пепГОП и белГОП), гиалуронана, но повышение содержания сГАГ в 3-й группе; повышение содержания белГОП во 2-й группе; повышение содержания свГОП в обеих группах относительно данных 1-й группы (табл.). Не отмечено различий в содержании гиалуронана, сГАГ, обГОП, пепГОП во 2-й группе относительно данных 1-й группы.

В системе локальной регуляции обмена ВКМ отмечены подавление активности ММП в 3-й группе, снижение содержания ТИМП-1 и -2, активности α 2-МГ во 2-й и 3-й группах, отсутствие различий в гиалуронидазной активности в обеих группах по сравнению с данными 1-й группы. Активность ММП во 2-й группе не отличалась от активности в 1-й группе.

Кроме того, выявлены межгрупповые различия, обусловленные способом введения ЛФДЗ. В 3-й группе снижены содержание гиалуронана в 3,5 раза, обГОП в 1,9 раза и его фракций (свГОП – 1,2 раза, пепГОП – 6,4 раза, белГОП – 2 раза), активность ММП в 2,3 раза и содержание ТИМП-2 в 2,4 раза, но оказались в 3 раза повышенными содержание сГАГ и активность α 2-МГ по сравнению с аналогичными данными 2-й группы.

Таким образом, введение ЛФДЗ мышам с БЦЖ-индуцированным гранулематозом в периоде

Таблица. Особенности ремоделирования внеклеточного матрикса в органах мышей с БЦЖ-индуцированным гранулематозом при разных способах введения липосомальной формы декстразида (ЛФДЗ) ($M \pm m$)**Table. Specific parameters of remodeling of the extracellular matrix in organs of mice with BCG-induced granulomatosis with different methods of administration of liposomal oxidized dextran (LOD) ($M \pm m$)**

Показатель	Группы			p
	БЦЖ + NaCl интраперитонеально	БЦЖ + ЛФДЗ ингаляции	БЦЖ + ЛФДЗ интраперитонеально	
	1-я группа, n = 5	2-я группа, n = 5	3-я группа, n = 5	
Печень мышей ($M \pm m$)				
Гиалуронан, нг/мг белка	163,73 ± 41,89	110,86 ± 15,85	31,92 ± 1,82	1-3=0,009 2-3=0,001
сГАГ в ПГ, мкг ХС-А/мг сухой ткани	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,005	0,20 ± 0,02	1-3=0,0005 2-3=0,0005
обГОП, мкг/мг сухой ткани	1114,54 ± 135,46	1319,34 ± 72,35	707,95 ± 43,54	1-3=0,009 2-3=0,0001
свГОП, мкг/мг сухой ткани	200,87 ± 17,88	435,89 ± 13,55	367,94 ± 11,87	1-2=0,001 1-3=0,0001 2-3=0,006
пепГОП, мкг/мг сухой ткани	416,36 ± 84,21	278,46 ± 47,65	43,57 ± 5,35	1-3=0,002 2-3=0,001
белГОП, мкг/мг сухой ткани	497,32 ± 44,25	604,99 ± 20,80	296,43 ± 35,39	1-2=0,034 1-3=0,008 2-3=0,0001
Гиалуронидазная активность, нм NAG/мин/мг белка	1,76 ± 0,44	1,09 ± 0,29	1,82 ± 0,17	*
Активность ММП, мкМ МСА/мин мг белка	51,03 ± 5,22	42,51 ± 3,87	18,18 ± 1,72	1-3=0,0005 2-3=0,0005
Активность α2-МГ, ИЕ/мг белка	0,22 ± 0,01	0,03 ± 0,001	0,09 ± 0,01	1-2=0,0005 1-3=0,0005 2-3=0,0005
ТИМП-1, нг/мг белка	22,29 ± 1,12	6,21 ± 1,12	4,02 ± 0,88	1-2=0,0005 1-3=0,0005
ТИМП-2, нг/мг белка	83,13 ± 1,03	20,31 ± 1,60	8,35 ± 0,55	1-2=0,0005 1-3=0,0005 2-3=0,0005
Легкие мышей				
Гиалуронан, нг/мг белка	422,54 ± 71,45	126,06 ± 17,10	52,90 ± 1,88	1-2=0,004 1-3=0,001 2-3=0,003
сГАГ в ПГ, мкг ХС-А/мг сухой ткани	0,99 ± 0,11	1,33 ± 0,05	0,82 ± 0,13	2-3=0,006
обГОП, мкг/мг сухой ткани	115,79 ± 8,87	91,68 ± 2,81	90,20 ± 13,43	1-2=0,005
свГОП, мкг/мг сухой ткани	15,76 ± 1,78	40,24 ± 1,69	40,06 ± 5,14	1-2=0,009 1-3=0,002
пепГОП, мкг/мг сухой ткани	42,97 ± 5,76	7,29 ± 0,75	11,90 ± 4,77	1-2=0,013 1-3=0,003
белГОП, мкг/мг сухой ткани	57,06 ± 3,07	44,16 ± 1,63	38,24 ± 5,72	1-2=0,016 1-3=0,020
Гиалуронидазная активность, нм NAG/мин/мг белка	2,35 ± 0,48	0,66 ± 0,13	0,58 ± 0,09	1-2=0,009 1-3=0,007
Активность ММП, мкМ МСА/мин мг белка	134,87 ± 11,82	114,45 ± 4,99	34,92 ± 1,28	1-3=0,0005 2-3=0,0005
Активность α2-МГ, ИЕ/мг белка	0,40 ± 0,05	0,13 ± 0,02	0,06 ± 0,01	1-2=0,001 1-3=0,0005 2-3=0,012
ТИМП-1, нг/мг белка	12,94 ± 1,64	4,47 ± 0,43	1,70 ± 0,06	1-2=0,001 1-3=0,0005 2-3=0,0005
ТИМП-2, нг/мг белка	22,15 ± 2,04	6,20 ± 0,66	2,81 ± 0,19	1-2=0,0005 1-3=0,0005 2-3=0,001

Примечание: ЛФДЗ – липосомальная форма декстразида, сГАГ – сульфатированные гликозаминогликаны, ПГ – протеоглики, обГОП – общий гидроксипролин, свГОП – свободный ГОП, пепГОП – пептидно-связанный ГОП, белГОП – белково-связанный ГОП, ММП – матриксные металлопротеиназы, α2-МГ – α2-макроглобулин, ТИМП – тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ;

* при $p > 0,05$ между любыми двумя группами результат p в таблицу не вносился

хронического воспаления приводило к усилению процесса деградации коллагена в печени (увеличение свГОП), связанное, по всей видимости, со снижением активности $\alpha 2$ -МГ, содержания ТИМП-1 и -2 при сохраняющейся высокой гиалуронидазной активности.

Кроме того, показано, что способ введения ЛФДЗ влияет на характер ремоделирования ВКМ печени. Интраперитонеальное введение вызвало более значимые изменения во ВКМ: перераспределение типов ГАГ в пользу сГАГ, снижение синтеза коллагенов (снижены уровни пепГОП, белГОП, обГОП) и антипротеазного компонента системы регуляции метаболизма ВКМ (снижено содержание ТИМП-2) по сравнению с данными, полученными при ингаляционном введении композиции. Меньшее содержание свГОП при интраперитонеальном введении ЛФДЗ, вероятно, связано со сниженной активностью ММП из-за большей активности $\alpha 2$ -МГ при этом способе введения, чем при ингаляционном введении.

Легкие. Отмечено низкое содержание гиалуронана, пепГОП, белГОП, высокое содержание свГОП у мышей во 2-й и 3-й группах по сравнению с данными 1-й группы, однако содержание обГОП статистически значимо было снижено только во 2-й группе (табл.). В системе локальной регуляции во 2-й и 3-й группах наблюдали подавление активности $\alpha 2$ -МГ, гиалуронидазной активности, снижение содержания ТИМП-1 и -2 относительно данных 1-й группы. В 3-й группе активность ММП в легких, как и в печени, снижена по сравнению с данными 1-й группы (табл.).

Выявлены различия, связанные со способом введения ЛФДЗ. В 3-й группе были снижены содержание гиалуронана, сГАГ, активность $\alpha 2$ -МГ и ММП, ТИМП-1 и ТИМП-2 по сравнению с данными 2-й группы (табл.). Несмотря на различия в активности $\alpha 2$ -МГ и ММП, содержании ТИМП-1 и -2, содержание обГОП и его фракций во 2-й и 3-й группах не отличалось. При отсутствии различий в гиалуронидазной активности большее содержание гиалуронана при ингаляционном введении ЛФДЗ позволяет предполагать исходно большее его содержание в органе. Такое предположение основано на мнении, что увеличение продукции гиалуронана часто связано с повышенной активностью гиалуронидаз [15].

Таким образом, введение ЛФДЗ мышам в периоде хронического БЦЖ-индуцированного гранулематоза (период после 6 мес. от инфицирования) приводило к усилению процесса деградации коллагенов и снижению их синтеза в легких. Этим процессам способствовали снижение активности $\alpha 2$ -МГ, содержания ТИМП-1 и -2.

При ингаляционном введении ЛФДЗ сохраняющаяся высокая активность ММП в легких, равная активности в 1-й группе, повышенный антипротеазный потенциал (активность $\alpha 2$ -МГ, содержание ТИМП-1 и -2), по сравнению с данными при интра-

перитонеальном введении композиции, обеспечили значимое снижение обГОП относительно 1-й группы. Отсутствие различий в содержании отдельных фракций ГОП и обГОП в легких между 2-й и 3-й группами позволяет допустить, что способы введения ЛФДЗ в периоде хронического воспаления с выраженным фиброзом не оказывают значимого влияния на характер метаболизма коллагенов.

В настоящем исследовании введение ЛФДЗ было начато через 6 мес. после инфицирования мышей *Mycobacterium bovis* BCG. Этот период выбран нами на основании результатов предыдущих работ, в которых показано значительное повышение содержания ГОП, маркера коллагена, в органах мышей через 6 мес. после инфицирования [5, 6]. Также показано, что способ введения ЛФДЗ оказывает влияние на фибролиз как в легких, так и в печени при условии введения композиции в течение 2 мес. через 3 мес. после инфицирования. При этом механизмы антифибротического эффекта различались: в легких отмечены усиление деградации и уменьшение синтеза коллагена, в печени – уменьшение синтеза коллагена на фоне снижения деградации коллагена [1].

В настоящем исследовании мы выясняли, сохранится ли антифибротический эффект ЛФДЗ при введении в периоде хронического БЦЖ-индуцированного гранулематоза, когда наблюдались выраженные фибротические изменения в органах. Очевидно, что избыточное депонирование компонентов ВКМ вокруг гранул и в самих гранулах, лишенных микроциркуляторных структур, создает препятствия для доставки лекарственных средств в места персистенции возбудителя.

Известно, что фиброз печени характеризуется повышенным содержанием в структуре ВКМ коллагена I, III и IV типов, гликопротеинов (фибронектины), ГАГ/протеогликанов. Ослабление фиброза может происходить за счет снижения продукции ВКМ, усиления деградации его компонентов за счет активации ММП и снижения ТИМП [11], неспецифических ингибиторов протеаз. В нашем исследовании в печени при интраперитонеальном введении ЛФДЗ (3-я группа) действительно наблюдали ослабление продукции (снижение пепГОП, белГОП и обГОП) и усиление деградации коллагенов (увеличение свГОП), при этом активность ММП и содержание ТИМП-1 и -2 были ниже, чем в 1-й группе. При ингаляционном введении ЛФДЗ сохранялась высокая активность ММП, что обеспечило усиление деградации коллагенов (увеличение свГОП), однако продукция коллагенов оставалась на уровне 1-й группы. В результате локальный дисбаланс между активностью ММП и снижением ТИМП не привел к снижению обГОП в печени при этом способе введения. В результате эффекты ЛФДЗ в печени при интраперитонеальном способе введения оказались более значимыми, чем при ингаляционном. Поскольку основными продуцентами компонентов ВКМ и ММП в печени являются активированные звездчатые клетки

[11, 16], не исключено, что ЛФДЗ может проявлять проапоптотическое действие.

В легких введение ЛФДЗ ингибировало активность ММП и α 2-МГ. Известно, что ММП инициируют формирование гранулем [17, 19], причем преобладают гранулемы небольшого размера с большим количеством коллагена [13]. Увеличение содержания ММП коррелирует с тяжестью заболевания [14]. Учитывая, что ММП являются не только ключевыми участниками гранулемогенеза, но и деструкции легочной ткани [7, 17], подавление активности ММП при введении ЛФДЗ может привести к уменьшению численности гранулем и деструкции легочной ткани и выраженности фиброза.

Известно, что гиалуронан участвует в качестве компонента присоединения МТБ к альвеолярным клеткам. В эксперименте показано, что микобактериальный ДНК-связывающий белок (MDP1) способствует инфицированию клеток с помощью гиалуронана [9]. Введение ЛФДЗ сопровождалось снижением содержания гиалуронана, что позволяет предположить ограничение взаимодействия МТБ и эпителия легочной ткани.

Полученные нами результаты по активности ММП согласуются с данными, полученными при ингаляционном и интраперитонеальном введении ЛФДЗ мышам в более ранние сроки и меньшей продолжительности (через 4 мес. после инфицирования, введение в течение 2 мес.) [3]. В легких мышей экспрессия мРНК ММП-9 при интраперитонеальном введении оказалась ниже, чем у животных группы БЦЖ+NaCl (аналог 1-й группы в нашем исследовании), при ингаляционном введении различия не наблюдали.

Отмеченное снижение активности ММП и усиление деградации коллагенов при интраперитонеальном введении ЛФДЗ в печени и легких могут свидетельствовать об активации других протеиназ. Здесь уместно вспомнить дезинтегринподобные металлопротеиназы с тромбоспондиновым повтором (ADAMTS) и астацин-связанные протеазы, функция которых связана с протеолизом ВКМ и описана в обзоре [10]. Хотя и эти протеазы, так же как и ММП, расщепляют компоненты ВКМ, по мнению авторов, они являются ключевыми участниками во многих других воспалительных, иммунных, морфогенетических процессах.

Заключение

Туберкулез – системное заболевание, протекающее с образованием гранулем, внутри которых и во

круг происходит активное ремоделирование ВКМ с развитием деструкции тканей, образованием полостей и фиброзированием органов, что существенно ограничивает доставку лекарственных препаратов в очаги инфекции. Результаты исследования свидетельствуют, что применение ЛФДЗ отчасти может решить эту проблему.

Введение ЛФДЗ мышам через 6 мес. после инфицирования привело к усилению процесса деградации коллагенов в печени, связанное, по всей видимости, со снижением активности α 2-МГ, содержания ТИМП-1 и -2. Показано влияние способа введения ЛФДЗ на характер ремоделирования ВКМ печени. Интраперитонеальное введение вызвало более значимые изменения в ВКМ: отмечены снижение содержания гиалуронана и увеличение сГАГ, снижение синтеза коллагена и антипротеазного компонента системы регуляции метаболизма ВКМ по сравнению с данными, полученными при ингаляционном введении композиции. Сниженная активность ММП при интраперитонеальном введении ЛФДЗ, вероятно, связана с повышением активности α 2-МГ, что в итоге обеспечило меньшее содержание свГОП при этом способе введения ЛФДЗ, чем при ингаляционном.

В легких введение ЛФДЗ мышам в этот период сопровождалось усилением процесса деградации коллагенов и снижением их синтеза. Этим процессам способствовало снижение активности α 2-МГ, содержания ТИМП-1 и -2. При ингаляционном введении ЛФДЗ сохраняющаяся высокая активность ММП, равная активности в 1-й группе, повышенный антипротеазный потенциал, по сравнению с данными при интраперитонеальном введении композиции, обеспечили значимое снижение обГОП относительно 1-й группы. Однако отсутствие различий в содержании отдельных фракций ГОП и обГОП в легких при ингаляционном и интраперитонеальном введении позволяет заключить, что способы введения ЛФДЗ в периоде хронического воспаления с выраженным фиброзом не оказывают значимого влияния на характер обмена коллагенов.

В целом, введение ЛФДЗ в печени и легких приводило к усилению фибролиза. В печени отмечено снижение темпов прогрессирования процессов фиброгенеза при интраперитонеальном введении, в легких – при интраперитонеальном и ингаляционном введении. Активность ММП снижена в обоих органах при интраперитонеальном введении, но остается повышенной при ингаляционном способе введения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

1. Ким Л. Б., Путяткина А. Н., Русских Г. С., Шкурупий В. А. Антифибротический эффект липосомальной формы композиции из окисленного декстрана и гидразида изоникотиновой кислоты у мышей с БЦЖ-гранулематозом зависит от способа ее введения // *Бюл. exper. биол.* – 2020. – Т. 169, № 1. – С. 78-83.
2. Ким Л. Б., Шкурупий В. А., Путяткина А. Н. Исследование концентрации основных компонентов внеклеточного матрикса в сыворотке крови, печени и легких мышей на ранней стадии БЦЖ-гранулематоза и в зависимости от способа их инфицирования // *Бюл. exper. биол.* – 2014. – Т. 158, № 9. – С. 303-307.
3. Кожин П. М., Чечушков А. В., Зайцева Н. С., Храпова М. В., Черданцева Л. А., Меньщикова Е. Б., Троицкий А. В., Шкурупий В. А. Экспрессия генов белков, сопряженных с фибропластическими процессами, в легких мышей при развитии туберкулезного воспаления // *Сиб. науч. мед. журнал.* – 2019. – Т. 39, № 4. – С. 22-29. DOI: 10.15372/SSMJ20190403.
4. Путяткина А. Н., Русских Г. С., Ким Л. Б. Патент на изобретение № 2735375 от 30.10.2020 «Способ определения фракций гидроксипролина в биологическом материале» // *Бюл.* 2020. № 31.
5. Шкурупий В. А., Ким Л. Б., Потапова О. В., Черданцева Л. А., Путяткина А. Н., Никонова И. К. Особенности процессов фиброобразования гранулем и интерстиция легких мышей при туберкулезном воспалении // *Бюл. exper. биол.* – 2013. – Т. 156, № 12. – С. 687-691.
6. Шкурупий В. А., Ким Л. Б., Потапова О. В., Шаркова Т. В., Путяткина А. Н., Никонова И. К. Исследование фибротических осложнений и концентрации гидроксипролина в печени мышей в разные периоды развития генерализованного БЦЖ-гранулематоза // *Бюл. exper. биол.* – 2014. – Т. 157, № 4. – С. 463-467.
7. Эсмедляева Д. С., Алексеева Н. П., Гаврилов П. В., Павлова М. В., Дьякова М. Е., Соколов Е. Г. Прогностическая роль показателей системы матриксные металлопротеиназы/ингибиторы в оценке характера репаративных изменений легочной ткани при инфильтративном туберкулезе легких // *Туб. и болезни легких.* – 2018. – Т. 96, № 9. – С. 38-44. DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-9-38-44.
8. Яровая Г. А., Доценко В. Л., Пашинцева Л. П., Нартикова В. Ф., Пасхина Т. С. Определение активности $\alpha 1$ -антитрипсина и $\alpha 2$ -макроглобулина в плазме крови человека унифицированным энзиматическим методом // *Методы клинической биохимии: учебное пособие / под ред. В. Н. Ореховича.* М.: ЦОЛИУВ, 1982. – С. 22-26.
9. Aoki K., Matsumoto S., Hirayama Y., Wada T., Ozeki Y., Niki M., Domenech P., Umemori K., Yamamoto S., Mineda A., Matsumoto M., Kobayashi K. Extracellular mycobacterial DNA-binding protein 1 participates in mycobacterium-lung epithelial cell interaction through hyaluronic acid // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 38. – P. 39798-39806. DOI: 10.1074/jbc.M402677200.
10. Apte S. S., Parks W. C. Metalloproteinases: A parade of functions in matrix biology and an outlook for the future // *Matrix Biol.* – 2015. – Vol. 44-46. – P. 1-6. DOI: 10.1016/j.matbio.2015.04.005.
11. Berg G., Barchuk M., Miksztovcz V. Behavior of metalloproteinases in adipose tissue, liver and arterial wall: an update of extracellular matrix remodeling // *Cells.* – 2019. – Vol. 8, № 2. – P. 158. DOI: 10.3390/cells8020158.
12. de Grauw J. C., van de Lest C. H., van Weeren P. R. Inflammatory mediators and cartilage biomarkers in synovial fluid after a single inflammatory insult: a longitudinal experimental study // *Arthritis Res. Ther.* – 2009. – Vol. 11, № 2. – P. R35. DOI: 10.1186/ar2640.
13. Hernández-Pando R., Jeyanathan M., Mengistu G., Aguilar D., Orozco H., Harboe M., Rook G. A., Bjune G. Persistence of DNA from Mycobacterium tuberculosis in superficially normal lung tissue during latent infection // *Lancet.* – 2000. – Vol. 356, № 9248. – P. 2133-2138. DOI: 10.1016/s0140-6736(00)03493-0.
14. Hrabec E., Strek M., Zieba M., Kwiatkowska S., Hrabec Z. Circulation level of matrix metalloproteinase-9 is correlated with disease severity in tuberculosis patients // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* – 2002. – Vol. 6, № 8. – P. 713-719.
15. Isman F.K., Kucur M., Baysal B., Ozkan F. Evaluation of serum hyaluronic acid level and hyaluronidase activity in acute and chronic hepatitis C // *J. Int. Med. Res.* – 2007. – Vol. 35, № 3. – P. 346-352. DOI: 10.1177/147323000703500309.
16. Roeb E. Matrix metalloproteinases and liver fibrosis (translational aspects) // *Matrix Biol.* – 2018. – Vol. 68-69. – P. 463-473. DOI: 10.1016/j.matbio.2017.12.012.
17. Salgame P. MMPs in tuberculosis: granuloma creators and tissue destroyers // *J. Clin. Invest.* – 2011. – Vol. 121, № 5. – P. 1686-1688. DOI: 10.1172/JCI57423.
1. Kim L.B., Putyatina A.N., Russkikh G.S., Shkurupy V.A. Antifibrotics effect of liposome-encapsulated composition of oxidized dextran and isonicotinic acid hydrazide in mice with BCG-induced granulomatosis depends on administration route. *Bul. Eksper. Biol.*, 2020, vol. 169, no. 1, pp. 78-83. (In Russ.)
2. Kim L.B., Shkurupy V.A., Putyatina A.N. Study of the concentration of the main components of the extracellular matrix in the serum, liver and lungs of mice at the early stage of BCG-granulomatosis and depending on the infection way. *Bul. Eksper. Biol.*, 2014, vol. 158, no. 9, pp. 303-307. (In Russ.)
3. Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Zaytseva N.S., Khrapova M.V., Cherdantseva L.A., Menshchikova E.B., Troitskiy A.V., Shkurupy V.A. Expression of protein genes participating in fibroplastic processes in mice lung during the development of tuberculous inflammation. *Sib. Nauch. Med. Journal*, 2019, vol. 39, no. 4, pp. 22-29. (In Russ.) doi: 10.15372/SSMJ20190403.
4. Putyatina A.N., Russkikh G.S., Kim L.B. Patent no. 2735375 as of 30.10.2020. *Sposob opredeleniya fraktsiy gidroksiprolina v biologicheskome materiale* [The method of testing of hydroxyproline fractions in biological specimens]. *Bul.* 2020, no. 31.
5. Shkurupy V.A., Kim L.B., Potapova O.V., Cherdantseva L.A., Putyatina A.N., Nikonova I.K. Specific parameters of granulomas and pulmonary interstitium fibrosis in mice with tuberculous inflammation. *Bul. Eksper. Biol.*, 2013, vol. 156, no. 12, pp. 687-691. (In Russ.)
6. Shkurupy V.A., Kim L.B., Potapova O.V., Sharkova T.V., Putyatina A.N., Nikonova I.K. Investigation of fibrotic complications and the concentration of hydroxyproline in the liver of mice at different periods of the development of generalized BCG granulomatosis. *Bul. Eksper. Biol.*, 2014, vol. 157, no. 4, pp. 463-467. (In Russ.)
7. Esmedlyaeva D.S., Alekseeva N.P., Gavrilov P.V., Pavlova M.V., Dyakova M.E., Sokolovich E.G. The predictive function of rates of matrix metalloproteinases/inhibitors system when assessing reparative changes in the lung tissue in those with infiltrate pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2018, vol. 96, no. 9, pp. 38-44. (In Russ.) doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-9-38-44.
8. Yarovaya G.A., Dotsenko V.L., Pashintseva L.P., Nartikova V.F., Pashchina T.S. *Opredeleye aktivnosti $\alpha 1$ -antitripsina i $\alpha 2$ -makroglobulina v plazme krovi cheloveka unifikirovannym enzimaticheskim metodom. Metody klinicheskoy biokhimii: uchebnoye posobiye.* [Testing the activity of $\alpha 1$ -antitrypsin and $\alpha 2$ -macroglobulin in human blood plasma by a unified enzymatic method. Clinical Biochemistry Methods. Textbook]. V.N. Orekhovich, eds., Moscow, TSOLIUV Publ., 1982, pp. 22-26.
9. Aoki K., Matsumoto S., Hirayama Y., Wada T., Ozeki Y., Niki M., Domenech P., Umemori K., Yamamoto S., Mineda A., Matsumoto M., Kobayashi K. Extracellular mycobacterial DNA-binding protein 1 participates in mycobacterium-lung epithelial cell interaction through hyaluronic acid. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, no. 38, pp. 39798-39806. doi: 10.1074/jbc.M402677200.
10. Apte S.S., Parks W.C. Metalloproteinases: A parade of functions in matrix biology and an outlook for the future. *Matrix Biol.*, 2015, vol. 44-46, pp. 1-6. doi: 10.1016/j.matbio.2015.04.005.
11. Berg G., Barchuk M., Miksztovcz V. Behavior of metalloproteinases in adipose tissue, liver and arterial wall: an update of extracellular matrix remodeling. *Cells*, 2019, vol. 8, no. 2, pp. 158. doi: 10.3390/cells8020158.
12. de Grauw J.C., van de Lest C.H., van Weeren P.R. Inflammatory mediators and cartilage biomarkers in synovial fluid after a single inflammatory insult: a longitudinal experimental study. *Arthritis Res. Ther.*, 2009, vol. 11, no. 2, pp. R35. doi: 10.1186/ar2640.
13. Hernández-Pando R., Jeyanathan M., Mengistu G., Aguilar D., Orozco H., Harboe M., Rook G.A., Bjune G. Persistence of DNA from Mycobacterium tuberculosis in superficially normal lung tissue during latent infection. *Lancet*, 2000, vol. 356, no. 9248, pp. 2133-2138. doi: 10.1016/s0140-6736(00)03493-0.
14. Hrabec E., Strek M., Zieba M., Kwiatkowska S., Hrabec Z. Circulation level of matrix metalloproteinase-9 is correlated with disease severity in tuberculosis patients. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.*, 2002, vol. 6, no. 8, pp. 713-719.
15. Isman F.K., Kucur M., Baysal B., Ozkan F. Evaluation of serum hyaluronic acid level and hyaluronidase activity in acute and chronic hepatitis C. *J. Int. Med. Res.*, 2007, vol. 35, no. 3, pp. 346-352. doi: 10.1177/147323000703500309.
16. Roeb E. Matrix metalloproteinases and liver fibrosis (translational aspects). *Matrix Biol.*, 2018, vol. 68-69, pp. 463-473. doi: 10.1016/j.matbio.2017.12.012.
17. Salgame P. MMPs in tuberculosis: granuloma creators and tissue destroyers. *J. Clin. Invest.*, 2011, vol. 121, no. 5, pp. 1686-1688. doi: 10.1172/JCI57423.

18. Strydom N., Gupta S. V., Fox W. S., Via L. E., Bang H., Lee M., Eum S., Shim T., Barry C. E., Zimmerman M., Dartois V., Savic R. M. Tuberculosis drugs' distribution and emergence of resistance in patient's lung lesions: A mechanistic model and tool for regimen and dose optimization // *PLoS Med.* – 2019. – Vol. 16, № 4. – P. e1002773. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002773.
19. Taylor J. L., Hattle J. M., Dreitz S. A., Troudt J. M., Izzo L. S., Basaraba R. J., Orme I. M., Matrisian L. M., Izzo A. A. Role for matrix metalloproteinase 9 in granuloma formation during pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* infection // *Infect. Immun.* – 2006. – Vol. 74, № 11. – P. 6135-6144. DOI: 10.1128/IAI.02048-05.
18. Strydom N., Gupta S.V., Fox W.S., Via L.E., Bang H., Lee M., Eum S., Shim T., Barry C.E., Zimmerman M., Dartois V., Savic R.M. Tuberculosis drugs' distribution and emergence of resistance in patient's lung lesions: A mechanistic model and tool for regimen and dose optimization. *PLoS Med.*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. e1002773. doi: 10.1371/journal.pmed.1002773.
19. Taylor J.L., Hattle J.M., Dreitz S.A., Troudt J.M., Izzo L.S., Basaraba R.J., Orme I.M., Matrisian L.M., Izzo A.A. Role for matrix metalloproteinase 9 in granuloma formation during pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Infect. Immun.*, 2006, vol. 74, no. 11, pp. 6135-6144. doi: 10.1128/IAI.02048-05.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2.

Ким Лена Борисовна

доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, руководитель группы биохимии соединительной ткани.
Тел.: 8 (383) 334-82-11.
E-mail: lenkim@centercem.ru

Пуяткина Анна Николаевна

кандидат медицинских наук, научный сотрудник группы биохимии соединительной ткани.
Тел.: 8 (383) 334-82-11.
E-mail: putyatina@ngs.ru

Русских Галина Сергеевна

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии.
Тел.: 8 (383) 335-97-35.
E-mail: russkikh_g@mail.ru

Шкурупий Вячеслав Алексеевич

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела общей патологии, научный руководитель.
Тел.: 8 (383) 333-64-56.
E-mail: sck@centercem.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine,
2, Timakova St., Novosibirsk, 630117.

Lena B. Kim

Doctor of Medical Sciences, Head Researcher, Head of Connective Tissue Biochemistry Group.
Phone: +7 (383) 334-82-11.
Email: lenkim@centercem.ru

Anna N. Putyatina

Candidate of Medical Sciences, Researcher of Connective Tissue Biochemistry Group.
Phone: +7 (383) 334-82-11.
Email: putyatina@ngs.ru

Galina S. Russkikh

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of Medical Biotechnological Laboratory.
Phone: +7 (383) 335-97-35.
Email: russkikh_g@mail.ru

Vyacheslav A. Shkurupiy

Academician of RAS, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of General Pathology Department, Academic Director.
Phone: +7 (383) 333-64-56.
Email: sck@centercem.ru

Поступила 01.12.2020

Submitted as of 01.12.2020