

ВЛИЯНИЕ ИЗОНИАЗИДА И ЕГО КОМПОЗИЦИЙ С ОКИСЛЕННЫМ ДЕКСТРАНОМ НА АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ВОСПАЛЕНИЯ И ДЕСТРУКЦИИ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ С БЦЖ-ГРАНУЛЕМАТОЗОМ

**Синявская А.М.,
Троицкий А.В.,
Быстрова Т.Н.,
Селятицкая В.Г.,
Шкурупий В.А.**

Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский
центр фундаментальной
и трансляционной медицины»
(630117, Новосибирская обл.,
г. Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Синявская Анна Максимовна,
e-mail: an.sadykova@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Туберкулез находится в числе самых распространенных инфекционных заболеваний человека. Один из основных препаратов для лечения туберкулеза – изониазид, обладающий целым спектром нежелательных явлений, в том числе гепатотоксичностью, в связи с чем, поиск путей снижения его токсических реакций является актуальным.

Цель исследования. Оценить степень повреждения печени и уровни цитокинов IL-6 и TNF- α , металлопротеиназ MMP1, MMP9, а также ингибитора протеиназы TIMP-1 в печени мышей, пораженной БЦЖ-гранулематозом, используя иммуногистохимический метод, после интраперитонеального введения изониазида, декстразида, липосомальной формы декстразида (ЛФД) и ингаляционного введения ЛФД.

Методы. Самцов мышей линии BALB/c (n=50) инфицировали ретроорбитальным введением вакцины БЦЖ. Через 3 месяца начали введение изониазида или его композиций с окисленным декстраном дважды в неделю в дозе 14 мг/кг массы тела в течение двух месяцев; контрольной группе вводили раствор NaCl. После забора печени проводили гистологическую обработку и иммуногистохимическое исследование.

Результаты. Через 5 месяцев после заражения в печени были обнаружены туберкулезные гранулемы. Общее количество гранулем, получавших все формы изониазида, сократилось, но наиболее эффективной была ЛФД, вводимая ингаляционно. Объемные плотности лимфоидных инфильтратов и деструкции были максимальными в печени мышей, получавших NaCl; в группах с изониазидом эти показатели были ниже. Количество клеток, продуцирующих IL-6, MMP1 и MMP9 было максимальным в группе с изониазидом, а TNF- α – в группе с NaCl; минимальные величины этих показателей наблюдали у мышей, получавших ЛФД. Количество клеток, продуцирующих TIMP1, было максимальным в группах, получавших ЛФД.

Заключение. Через 2 месяца после начала применения форм изониазида снизилось количество микобактерий туберкулеза (МБТ) в печени, особенно при ингаляционном введении ЛФД, которая способствует модуляции воспалительного ответа в тканях и сокращению деструкции за счет системного противовоспалительного действия, возможно обусловленного окисленным декстраном в ЛФД.

Ключевые слова: туберкулез, изониазид, декстразид, мыши, цитокины, металлопротеиназы

Статья поступила: 31.10.2024
Статья принята: 29.05.2025
Статья опубликована: 17.07.2025

Для цитирования: Синявская А.М., Троицкий А.В., Быстрова Т.Н., Селятицкая В.Г., Шкурупий В.А. Влияние изониазида и его композиций с окисленным декстраном на активность процессов воспаления и деструкции в печени мышей с БЦЖ-гранулематозом. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(3): 217-225. doi: 10.29413/ABS.2025-10.3.23

EFFECT OF ISONIAZID AND ITS COMPOSITIONS WITH OXIDIZED DEXTRAN ON THE ACTIVITY OF INFLAMMATION AND DESTRUCTION PROCESSES IN THE LIVER OF MICE WITH BCG GRANULOMATOSIS

**Sinyavskaya A.M.,
Troitskii A.V.,
Bystrova T.N.,
Selyatitskaya V.G.,
Shkurupy V.A.**

Federal Research Center of Fundamental
and Translational Medicine
(Timakova str., 2, 630117, Novosibirsk
Oblast, Novosibirsk, Russian Federation)

Corresponding author:
Anna M. Sinyavskaya,
e-mail: an.sadykova@yandex.ru

RESUME

Introduction. Tuberculosis is among the most common infectious diseases in humans. One of the main drugs for treating tuberculosis, isoniazid, has a wide range of adverse effects, including hepatotoxicity, making the search for ways to reduce its toxic reactions highly relevant.

The aim of the study was to assess liver damage, as well as the levels of the cytokines IL-6 and TNF- α , metalloproteinases MMP1 and MMP9, and the protease inhibitor TIMP-1 in mice with BCG granulomatosis. These factors were evaluated immunohistochemically following intraperitoneal injection of isoniazid, dextrazide, or a liposomal form of dextrazide (LFD), along with its inhalational injection.

Methods. Fifty male BALB/c mice were infected with BCG vaccine via retroorbital route. After 3 months, isoniazid or its compositions with oxidized dextran were injection twice a week at a dose of 14 mg/kg body weight for 2 months; the control group received NaCl solution. Liver was followed by histological processing and immunohistochemistry.

Results. Tuberculosis granulomas were detected in the liver 5 months after infection. The total number of granulomas was reduced in mice receiving all forms of isoniazid, but LFD injection by inhalation was the most effective. The volume densities of lymphoid infiltrates and tissue damage were greatest in the livers of mice injected with NaCl, with lower values observed in the isoniazid-treated groups. The number of cells producing IL-6, MMP1, and MMP9 was highest in the isoniazid group, while TNF- α production was highest in the NaCl group. The lowest values for these parameters were observed in mice treated with LFD. The number of cells producing TIMP1 was highest in the groups receiving LFD.

Conclusion. Two months after starting the isoniazid treatments, the amount of mycobacterium tuberculosis (MBT) in the liver decreased, particularly with the inhalational injection of LFD. This suggests that LFD helps modulate the inflammatory response in tissues and reduces damage, likely due to the systemic anti-inflammatory effect of oxidized dextran in the LFD.

Keywords: tuberculosis, isoniazid, dextrazide, mice, cytokins, metalloproteinases

Received: 31.10.2024
Accepted: 29.05.2025
Published: 17.07.2025

For citation: Sinyavskaya A.M., Troitskii A.V., Bystrova T.N., Selyatitskaya V.G., Shkurupy V.A. Effect of isoniazid and its compositions with oxidized dextran on the activity of inflammation and destruction processes in the liver of mice with BCG granulomatosis. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(3): 217-225. doi: 10.29413/ABS.2025-10.3.23

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время туберкулез остается одним из наиболее часто встречающихся инфекционных заболеваний [1]. Основным способом лечения туберкулеза является химиотерапия, однако длительность курса и связанные с ней побочные эффекты серьезно ухудшают жизнь пациентов и приводят к снижению приверженности к лечению, вплоть до полного его прекращения. Один из основных препаратов для лечения туберкулеза – изониазид, претерпевая биотрансформацию в печени, в результате даёт большое количество токсичных метаболитов, вызывая нарушения функций печени [2]. Низкая приверженность к лечению является причиной снижения его эффективности, возникновению рецидивов заболевания, и, самое тяжелое – развитию лекарственной устойчивости микобактерий к препаратам [1]. Эти обстоятельства подчеркивают необходимость детального понимания взаимодействия между организмом и микобактерией, а также требует разработки новых стратегий лечения, включая методы, ориентированные на организм хозяина.

Воздействие инфекционных агентов вызывает в организме различные реакции, включая воспалительные, сопровождающиеся синтезом провоспалительных цитокинов. Современные исследования, проведенные за последние два десятилетия в области изучения взаимодействия между организмом-хозяином и возбудителем, подтверждают, что клинические проявления туберкулеза в значительной степени связаны с сильной воспалительной реакцией, вызванной неадекватной реакцией иммунной системы хозяина на микробные агенты [3]. В этом контексте уровни провоспалительных цитокинов, включая TNF- α , IL-12 семейства, IL-1, IL-4, интерфероны типа I, TGF- β и IFN- γ , демонстрируют прямую связь с тяжестью заболевания [4]. Также стоит отметить, что высокий уровень провоспалительных цитокинов связан с интенсификацией деструктивных изменений в тканях. Например, TNF- α необходим для формирования и поддержания гранул, которые изолируют очаги инфекции и, тем самым, ограничивают распространение бактерий, однако избыточное образование этого цитокина связано с усилением воспаления.

При туберкулёзном воспалении активизируются разнообразные контрольные механизмы, что приводит к мобилизации гидролитических ферментов, среди которых особенно важное место занимают матриксные металлопротеиназы (MMP) [5]. Белки, взаимодействующие с МБТ, активируют металлопротеиназы, отвечающие за разрушение внеклеточного матрикса. У металлопротеиназ существуют специфические ингибиторы – тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP). Соотношение активностей MMP и TIMP регулирует состояние матрикса. При этом избыток активности MMP или недостаток активности TIMP могут спровоцировать излишнюю деграцию внутриклеточного матрикса и разрушение тканей.

В ФИЦ ФТМ было синтезировано вещество – декстразид, которое представляет собой соединение окисленного декстрана с изониазидом [6]. Было продемонстрировано, что данная форма изониазида эффективно устраняет из организма экспериментальных животных *Mycobacterium bovis* [7]. В результате последующих исследований для снижения токсического действия изониазида была создана липосомальная форма декстразида (ЛФД). Исходная концепция предполагала, что липосомы, нагруженные декстразидом и существенно превосходящие по размерам молекулу изониазида, будут активно захватываться макрофагами [8]. В результате чего активное антибактериальное вещество будет попадать в наиболее плотно населенные микобактериями участки – гранулемы [9].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить степень повреждения печени и уровни цитокинов IL-6 и TNF- α , металлопротеиназ MMP1, MMP9, а также ингибитора протеиназы TIMP-1 в печени мышей, пораженной микобактериальным гранулематозом, вызванным введением вакцины БЦЖ, с использованием иммуногистохимического метода, после интраперитонеального введения изониазида, декстразида и ЛФД, а также ингаляционного введения ЛФД.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На проведение экспериментов было получено разрешение локального комитета по биомедицинской этике ФИЦ ФТМ (протокол № 19 от 22 мая 2020 г.). Работу с животными осуществляли в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Правила лабораторных работ с грызунами и кроликами».

Эксперименты проводили с использованием 50 самцов мышей линии BALB/c с массой тела 19–22 грамма, полученных из ЦКП «Виварий конвенциональных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, после прохождения ими двухнедельного карантина. Мыши линии BALB/c обладают относительно большой продолжительностью жизни, менее склонны к злокачественным образованиям по сравнению с другими инбредными линиями, животные этой линии достаточно спокойны и при длительном совместном содержании избегают драк, что делает их оптимальным выбором для исследования течения длительного инфекционного процесса. Животных содержали в хорошо вентилируемом, отопляемом помещении вивария на стандартной неограниченной диете со свободным доступом к воде, с общим световым режимом, в стандартных полипропиленовых клетках для содержания мышей, по 5 голов в клетке, площадь пола на одну мышь составляла 130 см².

Инфицирование осуществляли путем ретроорбитального введения 0,5 мг микробных агентов из вакцины БЦЖ в 0,2 мл 0,85 % изотонического раствора NaCl с целью моделирования диссеминированного

туберкулёзного процесса. При введении в ретроорбитальный венозный синус бактерии из вакцины разносятся по организму гематогенным способом, оседая и образуя гранулемы в печени и легких. Вакцину БЦЖ-М получали из ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Вакцина представляет собой аттенуированную, не контаминированную посторонними микроорганизмами культуру микобактерий вакцинного штамма *Mycobacterium bovis*, субштамм BCG-1 (Russia). Использование для заражения животных *M. bovis* из вакцины БЦЖ позволяет вызывать хронический гранулематозный процесс, при котором животные не гибнут от острого течения заболевания. Так, в проведенном исследовании не было отмечено гибели животных в ходе эксперимента.

По истечении 3 месяцев персистенции инфекции начинали интраперитонеальное введение фармацевтических композиций, растворенных в 0,9 % растворе NaCl. Интраперитонеальный способ введения средств был выбран как приближенный по эффекту к внутривенному, но технически проще осуществимый при многократном введении. Животным первой группы (контроля) вводили интраперитонеально раствор NaCl, мыши второй группы получали изониазид, мыши третьей группы – декстразид, мыши четвертой группы – ЛФД, а мыши пятой группы получали ЛФД ингаляционно, в каждой группе было по 10 мышей. В работе использовали водный раствор изониазида производителя «Fluka Analytical» (США); декстразид и ЛФД синтезировали в ФИЦ ФТМ [6, 7, 8]. Доза изониазида во всех группах мышей составляла 14 мг/кг массы тела животного в соответствии с принятыми максимальными дозами изониазида в лечении туберкулёза (Клинические рекомендации «Туберкулез у взрослых», 2024). Введение фармацевтических композиций осуществляли в течение двух месяцев, дважды в неделю.

Мышам пятой группы ЛФД вводили по аналогичному графику ингаляционно, поскольку подавляющее число случаев туберкулёза — это легочная форма, и при ингаляционном способе введения фармацевтическая композиция может доставляться непосредственно к инфекционному очагу, повышая в нем уровень лечебного средства и уменьшая побочные системные эффекты. Доза ЛФД при ингаляционном введении была такой же, как и при интраперитонеальном введении. Для ингаляционного введения использовали ультразвуковой ингалятор «Муссон», в камеру которого помещали мышей и распыляли при комнатной температуре 2 % раствор препарата ЛФД, доза препарата на одно животное соответствовала дозе, применяемой при внутрибрюшинном введении. Мышей извлекали из камеры после полного испарения ингалируемой жидкости.

Спустя 2 месяца после начала введения препаратов, животные были выведены из эксперимента под эфирным наркозом.

Ткань печени фиксировали в 10 % растворе забуференного формалина, после чего ее подвергали стандартной гистологической обработке. Полученные

срезы окрашивали гематоксилином и эозином в соответствии с общепринятой методикой [10]. Иммуногистохимическое исследование тканей осуществляли с использованием метода непрямой пероксидазной реакции с моноклональными антителами, специфичными для IL-6, TNF- α , MMP1, MMP9 и TIMP-1 (1:100, Abcam). Определение количества и расположения микобактерий осуществляли с использованием иммуногистохимического окрашивания тканей с антителами к микобактерии (1:100, Abcam). Для определения объемной плотности положительно окрашенных клеток применяли специализированную программу ImageJ (INCToolbox), которая позволяет анализировать процент специализированного окрашивания.

Деструктивными изменениями паренхимы печени считали области микронекрозов и зоны гепатоцитов в состоянии гидропической дистрофии. Для оценки объемной плотности (Vv) деструктивных изменений и лимфоидных инфильтратов определяли процентную долю площади, занимаемую внутри закрытой тестовой системы, состоящей из 100 регулярно расположенных точек на площади $33,64 \times 10^5$ мкм².

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием статистической программы Statistica 10.0 (StatSoft, данные о лицензии: Серийный номер (SN) BX112F212428FA-8 CD Key 5VNZUVN8UUXUJNV58RKV). Для оценки межгрупповых различий использовали Н-критерий Краскела – Уоллиса, при обнаружении статистически значимых различий между группами далее проводили апостериорные сравнения с использованием критерия Манна – Уитни. Результаты представлены как средняя величина показателя и его среднеквадратичное отклонение ($M \pm SD$). Вероятность справедливости нулевой гипотезы (p) принимали при 5 % уровне значимости ($p < 0,05$).

Данные, представленные на столбчатых диаграммах, с целью повышения наглядности представления и межгруппового сравнения результатов были нормированы на показатели группы контроля.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Через 5 месяцев после заражения в печени мышей группы контроля были обнаружены туберкулезные гранулемы, состоящие, судя по морфологическим критериям, из макрофагов, лимфоцитов и эпителиоидных клеток, что согласуется с литературными данными [11]. Большая часть гранулём располагалась вокруг кровеносных сосудов, преимущественно вен, что связано со способом заражения (рис. 1).

Численность гранулём на единицу площади значительно уменьшалась при использовании всех форм изониазида, но наиболее эффективно себя показала ЛФД (рис. 2), при этом ингаляционное и интраперитонеальное введение показало сходный результат (рис. 3). Сходную динамику продемонстрировала и объемная плотность гранулём. Можно предполагать, что уменьшение объемной плотности гранулём, с сохранением

среднего диаметра, связано с полным «рассасыванием» мелких гранулём после элиминации МБТ внутри.

Через 5 месяцев после заражения все микобактерии были захвачены макрофагами, свободные МБТ иммуногистохимическим методом не определялись. Большая часть (около 60 % в группах мышей, не получавших препараты, и более 85 % в группах мышей,

получавших формы изониазида) найденных МБТ обнаруживались внутри макрофагов гранулем, меньшая часть присутствовала в свободных макрофагах. Это указывает на активное «встраивание» свободных макрофагов, захвативших микобактерии, в гранулемы [8].

Общее количество микобактерий в печени существенно уменьшилось у мышей, которым вводили

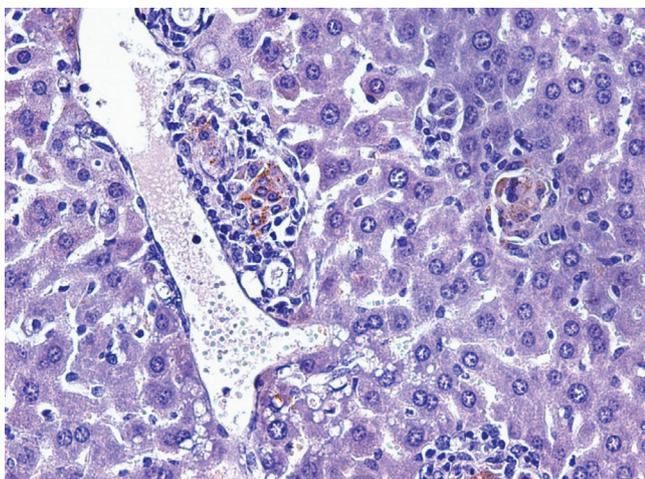


РИС. 1.
x200. ИГХ с антителами к МБТ. Гранулёмы с МБТ. Животные, зараженные БЦЖ, без лечения

FIG. 1.
x200. Histo-chemical study with antibodies to MBT. Granulomas with MBT. Animals infected with BCG, without treatment

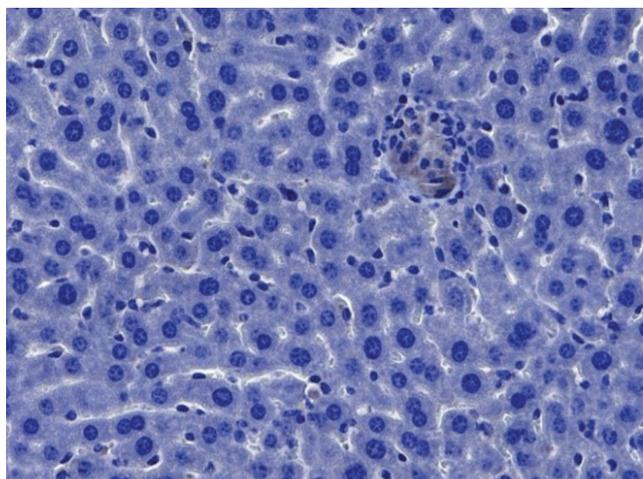


РИС. 2.
x200. ИГХ с антителами к МБТ. Гранулёмы с МБТ. Животные, зараженные БЦЖ, с введением ЛФД интраперитонеально

FIG. 2.
x200. Histo-chemical study with antibodies to MBT. Granulomas with MBT. Animals infected with BCG, with intraperitoneal administration of LFD

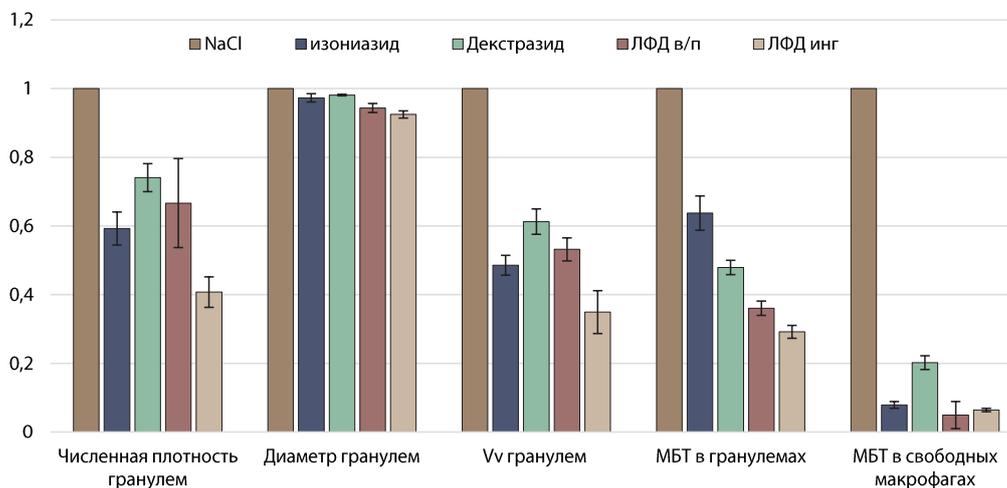


РИС. 3.
Объемная плотность МБТ в гранулёмах и свободных макрофагах, численная и объемная плотность гранулём, диаметр гранулём в печени мышей после 3 месяцев заражения БЦЖ и через 2 месяца введения изониазида или его композиций с окисленным декстраном

Примечание: по оси ординат приведены относительные значения величин показателей, нормированные на величины показателей в группе мышей, получавших NaCl. * – достоверные различия по сравнению с группой без лечения; # – достоверные различия по сравнению с группой, получавшей изониазид.

FIG. 3.
Volume density of MBT in granulomas and free macrophages, numerical and volume density of granulomas, diameter of granulomas in the liver of mice after 3 months of BCG infection and after 2 months of injection of isoniazid and its compositions with oxidized dextran
Note. The ordinate axis shows the relative values of the numerical and volumetric density of granulomas, the diameter of granulomas, the volumetric density of mycobacteria in granulomas and free macrophages, normalized to the indicators of the group injection NaCl. * – differences compared to the group without treatment; # – differences compared to the group receiving isoniazid.

разные формы изониазида, особенно количество МБТ в свободных макрофагах (рис. 3), что обусловлено более лёгким доступом молекул активного вещества в цитоплазму свободно лежащих клеток в отличие от компактно расположенных клеток в составе гранулёма.

Самой эффективной в элиминации микобактерий была ЛФД, вводимая как интраперитонеально, так и ингаляционно. Предположительно, это связано с лучшим захватом макрофагами крупных липосомальных частиц с последующим высвобождением и накоплением активного вещества (декстразида) в гранулёме.

После 2 месяцев введения препаратов в паренхиме печени мышей с помощью иммуногистохимического метода с соответствующими антителами были выявлены клетки, продуцирующие провоспалительные цитокины IL-6 и TNF- α , а также определена объемная плотность лимфоидных инфильтратов (рис. 4). Клетки, продуцирующие провоспалительные цитокины, распределялись неравномерно, концентрируясь вокруг гранулём и зон максимального разрушения ткани. Сходным образом распределялись в ткани печени и лимфоидные инфильтраты. Объемная плотность и интенсивность окраски этих клеток была максимальной у мышей в группе без введения препаратов, а у мышей в группах, получавших формы изониазида, значения этого параметра достоверно не отличались друг от друга и были меньше, чем в группе мышей с введением NaCl.

Объемная плотность клеток печени, продуцирующих IL-6, была максимальной среди всех зараженных животных в группе мышей, получавших изониазид.

Можно предположить, что это связано с дополнительным цитотоксическим эффектом самого изониазида в дополнение к инфекционному поражению. Минимальное значение этого параметра было в группах мышей, которым вводили ЛФД вне зависимости от способа. Объемная плотность клеток, продуцирующих TNF- α , была максимальной у мышей в группе контроля, а среди групп мышей, получавших препараты, – у животных, получавших изониазид. Минимальное значение данного параметра также было в группе мышей, получавших липосомальную форму изониазида.

На рисунке 5 представлены сведения об уровне продукции белков, влияющих на клеточный матрикс: MMP1, MMP9 и TIMP1, и объемной плотности деструктивных изменений в печени мышей. Отмечено, что уровни металлопротеиназ коррелируют с уровнем деструктивных нарушений паренхимы печени. Показано, что МБТ способствуют увеличению активности ключевых металлопротеиназ в печени [12, 13], что, в конечном счете, инициирует разрушение структур межклеточного матрикса.

Максимальный уровень деструкции в печени и, соответственно, максимальные величины объемной плотности клеток, продуцирующих MMP, зафиксированы у мышей, получавших изониазид, что, скорее всего, связано с токсическим влиянием самого средства, а не с действием инфекционного агента. Минимальное количество деструктивных изменений в печени было у мышей, получавших формы декстразида, причем ингаляционное введение ЛФД показало наилучший результат, возможно в связи с отсутствием

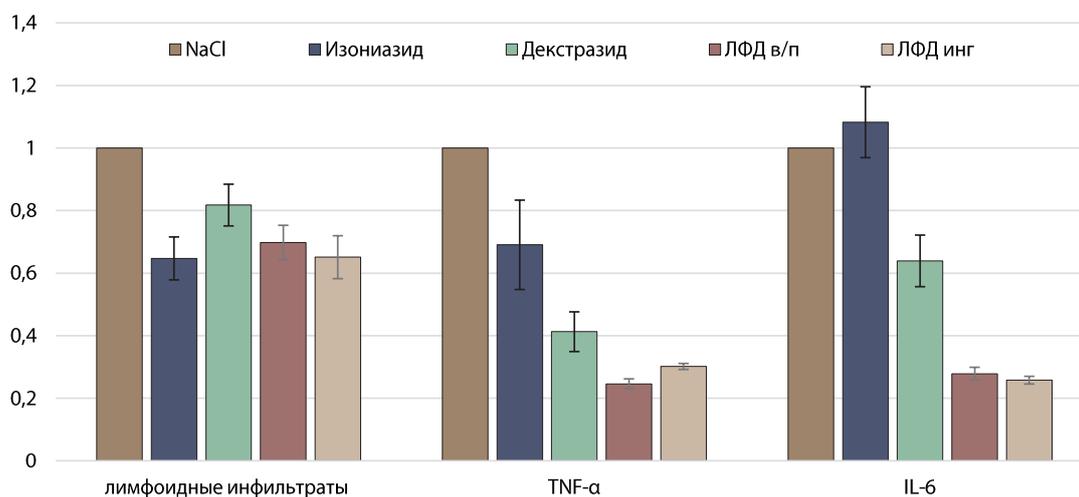


РИС. 4.

Объемная плотность лимфоидных инфильтратов, а также клеток, продуцирующих TNF- α и IL-6, в печени мышей после 3 месяцев заражения БЦЖ и через 2 месяца введения изониазида или его композиций с окисленным декстраном

Примечание: по оси ординат приведены относительные значения величин показателей, нормированные на величины показателей в группе мышей, получавших NaCl. * – достоверные различия по сравнению с группой без лечения; # – достоверные различия по сравнению с группой, получавшей изониазид.

FIG. 4.

Volume density of lymphoid infiltrates, TNF- α and IL-6 in the liver of mice, after 3 months of BCG infection, after 2 months of injection of isoniazid and its compositions with oxidized dextran

Note. The ordinate axis shows the relative values of the volume density of infiltrates, IL-6, TNF- α , normalized to the indicators of the group injection NaCl. * – differences compared to the group without treatment; # – differences compared to the group receiving isoniazid.

дополнительных повреждений, неизбежно возникающих при интраперитонеальном введении.

Повышение объемной плотности клеток, продуцирующих металлопротеиназы, влечет за собой заметные изменения в продукции TIMP1. Согласно полученным в ходе исследования результатам, вне зависимости от состава вводимых фармацевтических композиций, наблюдается обратная корреляция между объемной плотностью клеток, продуцирующих TIMP1 и металлопротеиназы. Подобные результаты также были получены в предшествующих исследованиях [14]. Стоит отметить, что в других научных исследованиях наблюдались различия в изменении активности TIMP1 при увеличении активности MMP [15], активность продукции TIMP1 не изменялась [16] или даже отмечалось её умеренное увеличение [17].

Размещение декстразида в липосомах приводит к увеличению антимикробактериальной эффективности за счет повышения концентрации действующего вещества в участках, где сконцентрированы микробные агенты, таких как цитоплазма макрофагов и гранулемы [6]. Тем не менее, несмотря на элиминацию микобактерий, сопутствующие поражения печени, связанные с действием инфекционного агента и побочным токсическим действием лекарств, сохраняются. Частым осложнением противотуберкулезной терапии являются побочные эффекты противотуберкулезных препаратов, особенно изониазида, до настоящего времени, являющегося наиболее часто применяющимся противотуберкулезным препаратом.

Разработка новых форм существующих препаратов для лечения туберкулеза ставит целью сократить длительность курса лечения и повысить качество жизни пациентов, основываясь на уменьшении побочных эффектов при повышении эффективности антимикробактериального действия. В проведенном нами исследовании спустя 2 месяца после начала применения форм изониазида удалось существенно снизить количество МБТ в печени, в том числе и при технически более простом и менее травматичном ингаляционном введении ЛФД. Кроме того, ЛФД способствует модуляции воспалительного ответа в тканях и сокращению выраженности деструкции за счет системного противовоспалительного воздействия, которое может быть обусловлено присутствием в составе ЛФД окисленного декстрана. За счет системного противовоспалительного влияния окисленный декстран в составе ЛФД способствует снижению гиперэргических иммунологических реакций, которые обычно усугубляют повреждение тканей при туберкулезной инфекции. В этой связи эффективность форм изониазида, содержащих окисленный декстран, может быть обусловлена не только непосредственным бактерицидным действием изониазида, но и способностью окисленного декстрана активировать макрофаги и стимулировать процесс слияния фагосом и лизосом. Этот процесс позволяет преодолеть незавершенный фагоцитоз в патогенезе туберкулеза [18]. В результате повышения функциональной активности клеток наблюдается

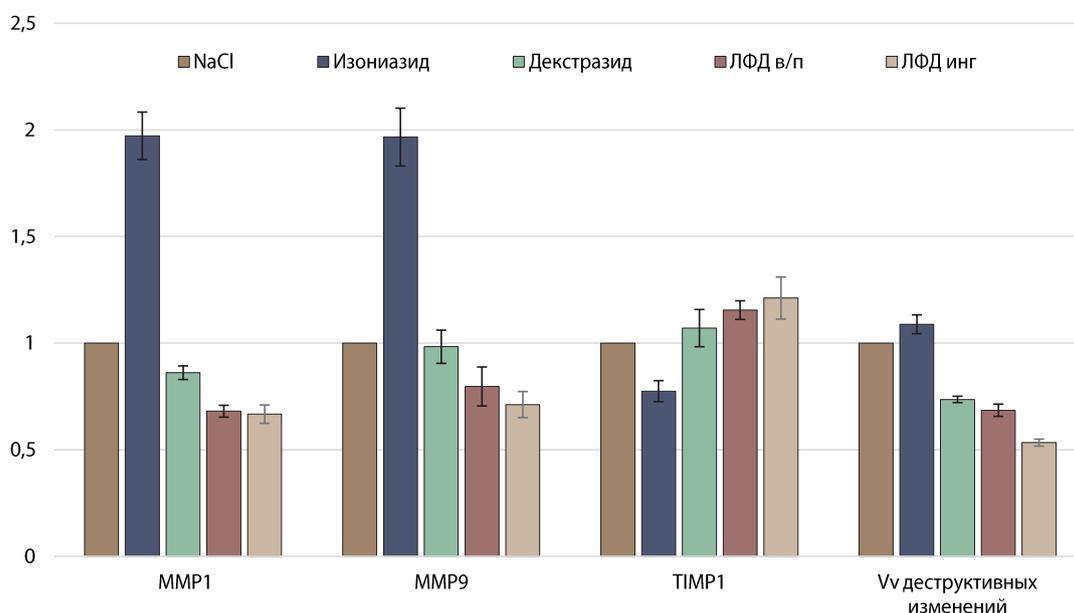


РИС. 5.

Объемная плотность клеток, продуцирующих MMP1, MMP9, TIMP-1, и деструктивных изменений в печени мышей после 3 месяцев заражения БЦЖ и через 2 месяца введения изониазида и его композиций с окисленным декстраном

Примечание: по оси ординат приведены относительные значения величин показателей, нормированные на величины показателей в группе мышей, получавших NaCl. * – достоверные различия по сравнению с группой без лечения; # – достоверные различия по сравнению с группой, получавшей изониазид.

FIG. 5.

Volume density of MMP1, MMP9, TIMP-1 and destructive changes in the liver of mice after 3 months of BCG infection, after 2 months of injection of isoniazid and its compositions with oxidized dextran. Note. The ordinate shows the relative values of the volume density of infiltrates, IL-6, TNF- α , normalized to the indicators of the group injection NaCl. * – differences compared to the group without treatment; # – differences compared to the group receiving isoniazid.

увеличение гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ КСФ), что, в свою очередь, «будит» неактивные L-формы, делая их более подверженными действию изониазида [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Через 2 месяца после начала введения изониазида и композиций изониазида с окисленным декстраном снизилось общее количество МБТ в паренхиме печени, объемная и численная плотность гранулём. Липосомальная форма декстразида, вне зависимости от способа введения, проявила большую, по сравнению с изониазидом, эффективность в элиминации микобактерий, персистирующих внутри отдельных макрофагов и макрофагов гранулём. При этом липосомальная форма декстразида оказывала меньшее токсическое действие на печень, особенно при ингаляционном введении ЛФД. Можно предполагать, что модуляция воспалительного ответа в тканях и сокращение выраженности деструкции происходит за счет системного противовоспалительного действия, обусловленного присутствием в составе ЛФД окисленного декстрана.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины».

Конфликт интересов

Авторы статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization; 2020. URL: <https://apps.who.int/irLs/bitstream/handle/10665/336069/9789240013131-eng.pdf> [date of access: June 28, 2021].
2. Краснова Н.М., Николаев В.М. Изониазид-индуцированное поражение печени: фармакогенетические аспекты. *Российский журнал персонализированной медицины*. 2022; 2(3): 38-46. [Krasnova NM, Nikolaev VM. Isoniazid-induced liver injury: pharmacogenetic aspects. *Russian Journal for Personalized Medicine*. 2022; 2(3): 38-46. (In Russ.)]. doi: 10.18705/2782-3806-2022-2-3-38-46
3. Domingo-Gonzalez R, Prince O, Cooper A, Khader SA. Cytokines and chemokines in mycobacterium tuberculosis infection. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4. doi: 10.1128/microbiolspec.TB2-0018-2016

4. Kumar NP, Moideen K, Banurekha VV, Nair D, Babu S. Plasma proinflammatory cytokines are markers of disease severity and bacterial burden in pulmonary tuberculosis. *Open forum infectious diseases*. – US: Oxford University Press. 2019; 6(7): ofz257. doi: 10.1093/ofid/ofz257

5. Rohlwinck UK, Walker NF, Ordonez AA, Li YJ, Tucker EW, Elkington PT, et al. Matrix metalloproteinases in pulmonary and central nervous system tuberculosis — a review. *International journal of molecular sciences*. 2019; 20(6): 1350. doi: 10.3390/ijms20061350

6. Жарков А.С., Шкурупий В.А., Лядов Е.А., Певченко Б.В., Беляев В.Н., Троицкий А.В., и др. Оценка фармакокинетических параметров и токсичности противотуберкулезного средства на основе окисленного декстрана и гидразида изоникотиновой кислоты. *Медицинский альянс*. 2013; 1(4): 55-61. [Zharkov A, Shkurupiy V, Lyadov E, Pevchenko B, Belyaev V, Troitskiy A, et al. Evaluation of pharmacokinetic parameters and toxicity of anti-tuberculosis drug based on oxidized dextran and the hydrazide of isonicotinic acid. *Medical Alliance*. 2013; 1(4): 55-61. (In Russ.)].

7. Шкурупий В.А. *Туберкулезный гранулематоз. Цитофизиология и адресная терапия*. М., Издательство ПАМН. 2007: 536. [Shkurupiy VA. *Tuberculous granulomatosis. Cytophysiology and address therapy*. Moscow: Izdatel'stvo RAMN; 2007: 536. (In Russ.)].

8. Архипов С.А., Шкурупий В.А., Нещадим Д.В., Ахраменко Е.С., Троицкий А.В., Ильин Д.А., и др. Исследование биосовместимости липосом с противотуберкулезным средством (декстразидом) в культуре макрофагов. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 9(1): 74-78. [Arkhipov SA, Shkurupiy VA, Neshadim DV, Akhramenko ES, Troitskiy AV, Iljin DA, et al. Study of biocompatibility liposomes with antituberculous drug (dekstrazid) in the macrophage cultures. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2015; 9(1): 74-78. (In Russ.)].

9. Sinyavskaya AM, Shkurupiy VA, Troitskiy AV, Kovner AM. Location of pulmonary mycobacteria tuberculosis and effectiveness of various dextrazide compositions in treatment of mice with BCG induced granulomatosis. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020; 169(1): 63-66. doi: 10.1007/s10517-020-04825-6

10. Lillie RD. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. N.Y.: Blakiston; 1954: 501.

11. Pagán AJ, Ramakrishnan L. Immunity and immunopathology in the tuberculous granuloma. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2015; 5(9): a018499. doi: 10.1101/cshperspect.a018499

12. Kathamuthu GR, Kumar NP, Moideen K, Nair D, Banurekha VV, Sridhar R, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases are potential biomarkers of pulmonary and extra-pulmonary tuberculosis. *Front. Immunol.* 2020; 11: 419. doi: 10.3389/fimmu.2020.00419

13. Sabir N, Hussain T, Mangi MH, Zhao D, Zhou X. Matrix metalloproteinases: expression, regulation and role in the immunopathology of tuberculosis. *Cell Prolif.* 2019; 52(4): e12649. doi: 10.1111/cpr.12649

14. Raeeszadeh-Sarmazdeh M, Do LD, Hritz BG. Metalloproteinases and their inhibitors: potential for the development of new therapeutics. *Cells*. 2020; 9(5): 1313. doi: 10.3390/cells9051313
15. Liu J, Khalil RA. Matrix metalloproteinase inhibitors as investigational and therapeutic tools in unrestrained tissue remodeling and pathological disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2017; 148: 355-420. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.04.003
16. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21(24): 9739. doi: 10.3390/cells9051313
17. Chen Y, Wang J, Ge P, Cao D, Miao B, Robertson I, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases 1, a novel biomarker of tuberculosis. *Mol. Med. Rep.* 2017; 15(1): 483-487. doi: 10.3892/mmr.2016.5998
18. Troitsky AV, Cherdantseva LA, Bystrova TN, Novikova EG, Ukah HU, Grishin OV, et al. Role of oxidized dextran in prevention and control of viral pneumonia and pulmonary fibrosis. *Acta Scientific Medical Sciences*. 2023; 7(5): 164-172.
19. Guler R, Ozturk M, Sabeel S, Motaung B, Parihar SP, Thienemann F, et al. Targeting molecular inflammatory pathways in granuloma as host-directed therapies for tuberculosis. *Front. Immun.* 2021; 12: 733853. doi: 10.3389/fimmu.2021.733853

Сведения об авторах

Синявская Анна Максимовна – младший научный сотрудник Научно-исследовательского Института Экспериментальной и Клинической Медицины Федерального Исследовательского Центра Фундаментальной и Трансляционной Медицины; e-mail: an.sadykova@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3245-483X>

Троицкий Александр Васильевич – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского Института Экспериментальной и Клинической Медицины Федерального Исследовательского Центра Фундаментальной и Трансляционной Медицины; e-mail: pharm2008@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9407-5377>

Быстрова Татьяна Николаевна – научный сотрудник Научно-исследовательского Института Экспериментальной и Клинической Медицины Федерального Исследовательского Центра Фундаментальной и Трансляционной Медицины; e-mail: bystrovatn@frcftm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3019-5107>

Селятицкая Вера Георгиевна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник Научно-исследовательского Института Экспериментальной и Клинической Медицины Федерального Исследовательского Центра Фундаментальной и Трансляционной Медицины; e-mail: csem@centercem.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4534-7289>

Шкурупий Вячеслав Алексеевич – доктор медицинских наук, научный консультант Научно-исследовательского Института Экспериментальной и Клинической Медицины Федерального Исследовательского Центра Фундаментальной и Трансляционной Медицины; e-mail: csem@centercem.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5078-4216>

Information about the authors

Anna M. Sinyavskaya – junior researcher, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine; Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; e-mail: an.sadykova@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3245-483X>

Aleksandr V. Troitskii – Cand. Sci. (Med.), leading researcher at the laboratory of biocompatible nanoparticles, nanomaterials and targeted delivery means Research Institute of Experimental and Clinical Medicine; Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; e-mail: pharm2008@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9407-5377>

Tatiana N. Bystrova – researcher, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; e-mail: bystrovatn@frcftm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3019-5107>

Vera G. Selyatitskaya – Dr. Sc. (Med.), Professor, principal researcher at the laboratory of endocrinology Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; e-mail: csem@centercem.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4534-7289>

Vyacheslav A. Shkurupiy – Dr. Sc. (Med.), Professor, scientific consultant, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; e-mail: csem@centercem.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5078-4216>