

МАРКЕРЫ СОСТОЯНИЯ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА И МЕТОДЫ ИХ ИССЛЕДОВАНИЯ (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2019.11.2.20

УДК 576.7

Поступила 11.03.2019 г.

© **Е.В. Туш**, к.м.н., доцент кафедры госпитальной педиатрии¹;
Т.И. Елисева, д.м.н., профессор кафедры госпитальной педиатрии¹;
О.В. Халецкая, д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной педиатрии¹;
С.В. Красильникова, к.м.н., ассистент кафедры болезней уха, горла и носа¹;
Д.Ю. Овсянников, д.м.н., профессор, зав. кафедрой педиатрии²;
Т.Е. Потемина, д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологической физиологии¹;
С.К. Игнатов, д.х.н., профессор кафедры физической химии³

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

²Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, 117198;

³Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Н. Новгород, 603950

Экстрацеллюлярный (внеклеточный) матрикс (ЭЦМ) представляет собой сложную сетчатую структуру, состоящую преимущественно из белков и углеводов, и рассматривается в настоящее время как ключевой регулятор организации тканей и гомеостаза. В каждом органе состав ЭЦМ различен, включает разнообразные фибриллярные компоненты, такие как коллагены, фибронектин и эластин, и нефибриллярные молекулы — протеогликаны, гиалуронан и гликопротеины, матриксные белки. ЭЦМ является активной структурой, в которой постоянно происходят процессы синтеза *de novo* структурных компонентов и параллельно — их деградации, осуществляемой преимущественно с участием ферментов, в том числе матриксных металлопротеиназ. Синтез и деградация компонентов матрикса находятся под сложным регуляторным влиянием различных медиаторов и цитокинов, метаболических, эпигенетических и средовых воздействий. В настоящее время накоплено большое количество доказательств, что изменения ЭЦМ играют важную роль при различных патологических состояниях. Этим обусловлен интерес к поиску маркеров, отражающих состояние ЭЦМ в разных органах и тканях как в физиологических условиях, так и при различных вариантах патологии. В последние годы многие из молекул ЭЦМ рассматриваются в качестве мишеней для диагностики, прогнозирования и лечения заболеваний. В данном обзоре мы систематизировали основные описанные в настоящий момент маркеры состояния ЭЦМ и используемые методы их определения.

Ключевые слова: экстрацеллюлярный матрикс; ремоделирование матрикса; биомаркеры; коллаген; металлопротеиназы.

Как цитировать: Tush E.V., Eliseeva T.I., Khaletskaya O.V., Krasilnikova S.V., Ovsyannikov D.Yu., Potemina T.E., Ignatov S.K. Extracellular matrix markers and methods for their study (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2019; 11(2): 133–149, <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.2.20>

Для контактов: Елисева Татьяна Ивановна, e-mail: eliseevati@yandex.ru

Extracellular Matrix Markers and Methods for Their Study (Review)

E.V. Tush, MD, PhD, Associate Professor, Department of Hospital Pediatrics¹;
T.I. Eliseeva, MD, DSc, Professor, Department of Hospital Pediatrics¹;
O.V. Khaletskaya, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Hospital Pediatrics¹;
S.V. Krasilnikova, Assistant, Department of ENT Diseases¹;
D.Yu. Ovsyannikov, MD, DSc, Head of the Department of Pediatrics²;
T.E. Potemina, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathophysiology¹;
S.K. Ignatov, DSc, Professor, Department of Physical Chemistry³

¹Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia, 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russia;

³National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russia

The extracellular matrix (ECM) is a complex meshwork consisting mainly of proteins and carbohydrates; it is currently viewed as a key factor of tissue organization and homeostasis. In each organ, the composition of ECM is different: it includes a variety of fibrillar components, such as collagens, fibronectin, and elastin, as well as non-fibrillar molecules: proteoglycans, hyaluronan, and glycoproteins, matrix proteins. ECM is an active tissue, where the *de novo* syntheses of structural components are constantly taking place. In parallel, ECM components undergo degradation catalyzed by a number of enzymes including matrix metalloproteinases. The synthesis and degradation of ECM components are controlled by mediators and cytokines, metabolic, epigenetic, and environmental factors. Currently, a large amount of evidence indicates that modifications (remodeling) of ECM play an important role in the pathogenesis of clinical conditions. This may explain the increasing interest in the markers of ECM remodeling both in health and disease. In recent years, many of the ECM markers were considered targets for diagnosing, predicting, and treating diseases. In this review, we discuss some of the currently known ECM markers and methods used for their determination.

Key words: extracellular matrix; matrix remodeling; biomarkers; collagen; metalloproteinases.

Введение

Экстрацеллюлярный матрикс (ЭЦМ) представляет собой основу соединительной ткани, в том числе является компонентом жидких соединительных тканей (кровь, лимфа), который обеспечивает механическую поддержку клеток, межклеточные взаимодействия, транспорт химических веществ и локомоцию клеток [1–3]. Ранее полагали, что ЭЦМ является стабильной структурой, меняющейся преимущественно в соответствии с потребностями роста и репарации. Однако исследования последних лет показали, что ЭЦМ метаболически активен и постоянно реконструируется [4].

В организме происходят одновременно два процесса: непрерывная деградация ЭЦМ под влиянием специальных ферментов и параллельно — синтез компонентов матрикса с его перестройкой. Данные изменения ЭЦМ оказывают влияние на клетки, регулируя их пролиферацию, миграцию и дифференцировку [5–7]. Для обеспечения миграции и пролиферации клеток в соединительной ткани локальная деградация ЭЦМ является необходимым условием, однако нарушение данного процесса, например при дисплазии соединительной ткани, может привести к

развитию неоплазий [8]. В норме гомеостаз ЭЦМ характеризуется оптимальным балансом между образованием, секрецией, изменением и деградацией матрикса [9].

Возрастающий интерес к состоянию ЭЦМ обусловлен пониманием важности данных процессов как с физиологических, так и с патофизиологических позиций. В последние годы появились новые возможности для изучения ЭЦМ, в том числе с использованием современных методов визуализации его состояния, включая оптическую когерентную томографию (ОКТ) и метод меченых моноклональных антител к отдельным элементам ЭЦМ [10–13]. Активно развиваются и подходы к терапевтической коррекции нарушений метаболизма ЭЦМ [14, 15], в том числе основанные на методах генной инженерии [16].

Перестройка ЭЦМ, т.е. его структурно-геометрические изменения, носит название ремоделирование. Ремоделирование играет важную физиологическую роль в здоровом организме, а его аномалии — в патогенезе различных заболеваний. В здоровом организме ремоделирование ЭЦМ наблюдается от рождения до состояния зрелости и является компонентом процессов роста. Аномальное ремоделирование ЭЦМ может сопровождать многие патологические состояния.

Проявление такого ремоделирования характерно в том числе для хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмы [5]. В частности, в наших исследованиях [17–22] применение современных методов визуализации позволило выявить у значительной доли детей с атопической бронхиальной астмой аномалии внутриносевых структур, гипертрофические изменения глоточной миндалины, дебютирующую гипертрофию слизистой оболочки полости носа. Это, с одной стороны, может быть рассмотрено с позиций мультиморбидности патологических изменений при респираторной аллергии у детей и косвенно свидетельствовать о системном вовлечении ЭЦМ в патологический процесс. С другой стороны, выявленные изменения могут указывать на наличие патологического ремоделирования, заключающегося в том числе в потенцировании гипертрофических изменений в верхних дыхательных путях у детей с атопической бронхиальной астмой.

Доказанное участие ремоделирования ЭЦМ в патогенезе большого перечня болезней обуславливает важность регулярного мониторинга его состояния. Для такого мониторинга наиболее удобным является не изучение ЭЦМ в отдельных локальных точках, а использование биохимических и аналитических методов обнаружения молекул, появляющихся в результате ремоделирования и характеризующих ЭЦМ организма в целом, — биомаркеров состояния ЭЦМ. В связи с этим особую важность приобретает поиск наиболее информативных биомаркеров для оценки как текущего состояния ЭЦМ при той или иной патологии, так и его динамического изменения в ходе терапии и определения ее эффективности. Наблюдение за ЭЦМ, присутствующим во всех органах и тканях организма, дает возможность понимания генеза мультиморбидных заболеваний, включая мультисистемные проявления у пациентов с атопическими заболеваниями, дисплазией соединительной ткани и другими патологическими состояниями, открывает широкие перспективы для разработки новых подходов к терапии [19, 23–25].

В настоящем обзоре мы рассматриваем основные классы биомаркеров, которые могут быть использованы для мониторинга состояния ЭЦМ, кратко характеризуем их связь с некоторыми патологическими состояниями и методы их определения.

Маркеры состояния экстрацеллюлярного матрикса

С учетом многокомпонентности состава ЭЦМ при оценке происходящих процессов ремоделирования в настоящее время считается нецелесообразным использовать какой-либо один маркер состояния матрикса. Сложность изучения обусловлена также возрастными и патофизиологическими особенностями обмена ЭЦМ. Продемонстрировано, что соматическое развитие пациента и, следовательно, формирование

структур ЭЦМ могут иметь свои особенности в условиях имеющейся хронической патологии [3, 18, 26–28].

В настоящее время активно изучаются следующие маркеры, отражающие состояние ЭЦМ:

1. Маркеры, характеризующие уровень составных компонентов ЭЦМ:

маркеры синтеза и деградации различных типов коллагенов как основных структурообразующих белков ЭЦМ;

продукты деградации эластина;

метаболиты других составных компонентов ЭЦМ.

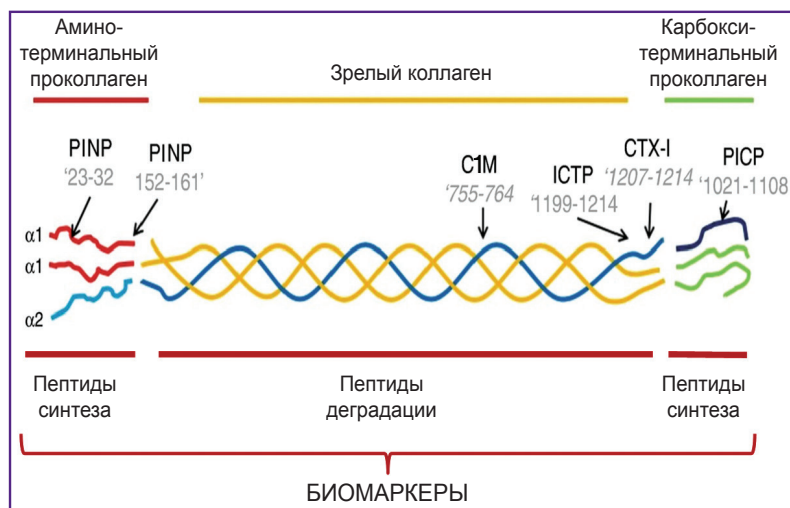
2. Маркеры, которые характеризуют уровень и активность протеиназ (матриксных металлопротеиназ — MMP, капсаз, химаза и др.), осуществляющих деградацию вышеперечисленных компонентов, а также их ингибиторов.

3. Медиаторы и цитокины, участвующие в метаболизме ЭЦМ.

Сложность определения наиболее информативных биомаркеров для оценки ремоделирования ЭЦМ обусловлена также и тем, что одновременно могут происходить разнонаправленные процессы [29]. В начальной фазе после повреждения эндотелиальных или эпителиальных клеток вследствие разрушения базальной мембраны протеазами, продуцируемыми воспалительными клетками (нейтрофилами, макрофагами), высвобождаются фрагменты деградации основных белков базальной мембраны, например С4М (фрагмент зрелого коллагена типа IV, образующийся под действием MMP — см. рисунок). Далее процесс продолжается в более глубоких тканях с образованием таких маркеров, как MMP-генерируемые фрагменты коллагенов типа I и III — С1М и С3М соответственно, которые можно рассматривать как маркеры хронического воспаления. Кроме того, в процессе восстановления ЭЦМ фибробласты генерируют новые белки базальной мембраны и межклеточного матрикса, чтобы заменить поврежденные. К маркерам образования коллагена относится, например, расщепленный аминокислотный пропептид проколлагена типа III (amino-terminal propeptide of type III procollagen, Pro-C3, PIIINP).

В соответствии с этой схемой цикл жизни коллагена может быть отслежен путем измерения сыровоточных уровней карбокситерминального телопептида коллагена типа I (carboxy-terminal telopeptide of collagen type I, P1CP, ICTP) и проколлагена типа III — PIIINP [30]. ICTP представляет собой небольшую молекулу, появляющуюся в результате зависящей от MMP деградации коллагена типа I. Уровни PIIINP отражают синтез коллагена [31]. Вместе ICTP и PIIINP характеризуют интенсивность цикла синтеза/деградации коллагена и служат в качестве биомаркеров его метаболизма.

При персистенции воспалительного процесса и индуцировании фиброза протеиназы разрушают новообразованный матрикс и в то же время активированные фибробласты продуцируют новые матриксные



Маркеры синтеза и деградации коллагена типа I (по F. Genovese, M.A. Karsdal, 2016 [29] с изменениями)

Здесь: PINP — аминокислотные пропептиды коллагена типа I, фрагмент 152–161 и 23–32; ICTP — маркер деградации коллагена, опосредованный металлопротеиназой; CTX-I — C-концевой телопептид коллагена типа I, опосредованный катепсином K и поступающий только из костной ткани; PICP — карбокситерминальный пропептид коллагена. Для коллагенов других типов также определяются фрагменты аминокислотного (Pro-Cx/PxNP) и зрелого коллагена (CxM), где x соответствует типу коллагена

белки в ускоренном темпе. Новый матрикс может быть образован как нормальными, так и измененными белками, такими как незрелый коллаген, который может быть включен в матрицу. Данный коллаген будет подвергаться посттрансляционным модификациям, таким как формирование поперечных связей, опосредованных сшивающими ферментами, которые активируются в фиброзной микросреде [29].

Маркеры, характеризующие уровень составных компонентов экстрацеллюлярного матрикса

Маркеры синтеза и распада коллагенов. В настоящее время наиболее часто определяют именно уровень продуктов деградации коллагенов в различных биологических жидкостях (кровь, моча, желудочный сок, синовиальная жидкость). Из них самым доступным и хорошо изученным маркером является гидроксипролин (оксипролин) — аминокислота, отличающаяся от пролина наличием гидроксильной группы у одного из атомов углерода, которая входит в состав молекул коллагена. Свободный гидроксипролин является маркером деструкции коллагена, а пептидно-связанный отражает процессы как распада, так и синтеза коллагена. Так как значительные количества гидроксипролина образуются в результате деградации вновь синтезированного коллагена одновременно в разных тканях, то уровень гидроксипролина мочи рассматривается как довольно неспецифический по-

казатель и в последнее время преимущественно заменяется более специфическими маркерами [32]. К числу таких специфических маркеров относятся:

1. Маркеры распада коллагенов:

дезоксипиридинолин или пирилинкс-Д суточной мочи (основной материал поперечных связей зрелого коллагена костной ткани);

продукты деградации коллагена типа I — белковые фрагменты подвергшегося деградации коллагена. Синонимы: карбокситерминальный телопептид коллагена типа I, C-концевые телопептиды коллагена типа I, β -Cross Laps, бета-CrossLaps, C-терминальный телопептид сыворотки. Английские синонимы: C-Telopeptide, Beta-Cross-Linked, Carboxy-terminal Cross-linking Telopeptide of Bone Collagen, Collagen Cross-linked C-Telopeptide, Collagen CTX, Crosslaps, Type 1 Collagen, Beta-Cross laps, CT, b-CTX; фрагменты деградации зрелого коллагена: C1M, C3M, C4M, C5M, C6M [33].

Преимуществом использования этих маркеров является то, что они отражают метаболизм собственно матрикса организма в отличие, например, от оксипролина, уровень которого частично отражает поступление коллагена и других веществ с пищей, в результате чего на уровень оксипролина влияет всасывание продуктов переваривания внешних коллагенсодержащих продуктов в желудочно-кишечном тракте.

2. Маркеры синтеза коллагенов:

остеокальцин — неколлагеновый белок, синтезируемый остеобластами, способствующий связыванию кальция и гидроксиапатитов;

аминокислотные пропептиды проколлагена типов I, II, III, IV, V, VI (Pro-C1/PINP, Pro-C2/PIINP, Pro-C3/PIIINP, Pro-C4, Pro-C5, Pro-C6 соответственно) [34, 35];

карбокситерминальный пропептид проколлагена типа I [36].

Данные метаболиты характеризуются тканеспецифичностью, что позволяет использовать уровень их содержания в качестве маркеров состояния метаболизма ЭЦМ в органах и тканях в сопоставлении с клинической информацией.

Продукты распада коллагена могут быть биологически активны. Основные биологические эффекты пептидных молекул-derivатов коллагена типов I и IV суммированы в табл. 1 и включают:

- 1) хемоаттракцию нейтрофилов, эндотелиальных клеток;
- 2) регулирование миграции клеток, в том числе фибробластов, опухолевых клеток;
- 3) регулирование тканевой васкуляризации, включая ингибирование ангиогенеза;

Таблица 1

**Биоактивные пептиды, генерируемые из коллагенов, и их биологические влияния
(по A. Kising с соавт., 2019 [10], с дополнениями)**

Субстрат	Матриксная металлопротеиназа	Продуцирующая ткань	Биоактивный пептид	Биологическое влияние	Источник
Коллаген типа I	MMP-8 MMP-9	Коллагены и эластины различных тканей	Пролин-глицин-пролин	Регуляторный пептид (регулятор воспаления, хемоаттрактант нейтрофилов)	[37–39]
	MMP-2 MMP-9	Ткани сердца	C-1158/59	Улучшение заживления ран; миграция клеток	[40, 41]
		Костная ткань	C-пропептид	Тканевая васкуляризация; эндотелиальный хемоаттрактант	[42]
Коллаген типа IV	MMP-2 MMP-9	Эпителиальные и эндотелиальные ткани	Аррестин	Многофункциональные белки; ингибирование ангиогенеза; мезенхимально-эндотелиальный переход	[43–46]
	MMP-2	Эпителиальные и эндотелиальные ткани	Канстатин	Пролиферация эпителиальных клеток; миграция фибробластов; обладает антиангиогенным эффектом	[47]
	MMP-9	Эпителиальные и эндотелиальные ткани	Тумстатин	Антиангиогенный и противовоспалительный эффект; пролиферация и миграция фибробластов; устраняет ремоделирование в моделях астмы	[48–50]
	MMP-2 MMP-9	Эпителиальные и эндотелиальные ткани	Тетрастатин	Противоопухолевый миграционный эффект; препятствует миграции опухолевых клеток	[51, 52]
	MMP-2 MMP-9	Ткани легкого и молочной железы	Пентостатин	Антиангиогенный эффект	[53]
	MMP-2 MMP-9	Ткани глаза, эндотелий сосудов	Гексастатин	Антиангиогенный и антимиграционный эффект	[54]

Здесь: **MMP** — металлопротеиназа, матриксин-биоактивный фрагмент ЭЦМ, который модулирует различные физиологические процессы, связываясь с рецепторами клеточной поверхности к хемокинам, цитокинам, факторам роста; **пролин-глицин-пролин (proline-glycine-proline)** — продукт расщепления коллагена, регуляторный пептид; **C-1158/59** — фрагмент коллагена C-1158/59, был идентифицирован после инфаркта миокарда в плазме человека; **C-пропептид** — C-пропептид проколлагена типа I (C-propeptide of type I procollagen) — концевой фрагмент проколлагена типа I, маркер биосинтеза коллагена типа I; **аррестин** — семейство многофункциональных белков, которые происходят из неколлагенового домена $\alpha 1$ -цепи коллагена типа IV; **канстатин** — канстатин неколлагеновый — C-концевой фрагмент коллагеновой $\alpha 2$ -цепи типа IV; **тумстатин** — дериват коллагена типа IV, производное $\alpha 3$ -цепи — матрикриптин; **тетрастатин** — дериват коллагена типа IV, производное $\alpha 4$ -цепи — матрикриптин; **пентостатин-1** — дериват коллагена типа IV, производное $\alpha 5$ -цепи — матрикриптин; **гексастатин** — дериват коллагена типа IV, производное $\alpha 6$ -цепи — матрикриптин; **матрикриптин** — лиганд со «скрытыми» или функционально «неактивными» доменами, которые становятся открытыми или «активными» после фрагментации от родительской молекулы; **мезенхимально-эндотелиальный переход** — процесс изменения мезенхимальными клетками мезенхимального фенотипа на эпителиальный.

4) регулирование пролиферации эпителиальных клеток, фибробластов.

Следует также отметить, что пропептид коллагена типа VI в настоящее время также рассматривается как гормон, называемый эндотрофин [55, 56]. Он стимулирует профиброгенез и неоангиогенез, является хемоаттрактантом, в том числе для макрофагов, моноцитов и опухолевых клеток, повышает инсулинорезистентность тканей [57–60].

Продукты деградации эластина. Эластин является структурным белком, обеспечивающим эластичность тканей, в том числе респираторной системы [61, 62]. При разрушении эластина в процессе

воспаления нейтрофильной эластазой генерируется специфический фрагмент эластина, EL-NE, который выделяется в циркуляцию [63]. Особое значение имеет факт, что антитело, полученное для захвата этого фрагмента, *in vitro* способно связывать только фрагмент EL-NE без связывания интактного эластина, а также фрагментов эластина, расщепленных MMP или катепсином G [63].

Эластин является важным структурным белком легких [64]. В исследовании S.R. Ronnow с соавт. [65] недавно продемонстрировано, что специфические фрагменты деградации эластина, генерируемые следующими ферментами: протеиназой 3, катепси-

ном G, нейтрофильной эластазой, MMP-7 или MMP-9 и MMP-12, могут быть полезны в качестве биомаркеров, определяющих подтипы пациентов с ХОБЛ с риском плохого прогноза, что свидетельствует о необходимости дальнейших исследований в этом направлении.

Среди биомаркеров нарушения метаболизма ЭЦМ, связанного с деградацией эластина, особое место занимают аминокислоты десмозин и изодесмозин, существующие только в матрице эластина. Содержание данных аминокислот может быть измерено с высоким уровнем точности в плазме, моче и мокроте. Данные аминокислоты отражают изменения в системном балансе между активностью и ингибированием эластазы, вызванные системным воспалительным состоянием. Уровни этих биомаркеров в мокроте отражают состояние деградации эластина в легких. Клинические данные, накопленные за несколько десятилетий, указывают на корреляцию уровней десмозина и изодесмозина с ХОБЛ различной степени тяжести и ответами на терапию [66–68].

Метаболиты других составных компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Для характеристики биохимических процессов, происходящих в ЭЦМ, важна оценка и других неколлагеновых структурных белков, таких, например, как протеогликаны и адгезивные белки (ламинины, фибронектин). В настоящее время совершенствуются иммуноферментные и спектрометрические методики определения сульфатированных гликозаминогликанов (углеводной части протеогликанов) — гепарана, дерматана, гиалуронана, кератана [69].

Из несulfатированных гликозаминогликанов особый интерес как маркер ЭЦМ вызывает гиалуронан (гиалуроновая кислота, ГК). Показана роль ГК как системного маркера, не требующего проведения биопсии, при оценке манифестации и прогрессирования фиброза печени [70, 71]. Имеются данные о структуре дериватов ГК, образующихся под действием гиалуронидазы. Высокомолекулярная ГК (молекулярная масса более 1000 кДа) является физиологически до-

ступной формой, обладает противовоспалительными и антиангиогенными свойствами и способствует выживанию клеток. Напротив, низкомолекулярная ГК (150–350 кДа), продуцируемая во время воспаления, обладает провоспалительными и проангиогенными свойствами и способствует миграции клеток в очаг воспаления [72, 73]. Продукты деградации ГК являются активными участниками стимуляции экспрессии воспалительных генов в различных иммунных клетках в месте повреждения [74]. Экспериментальные наблюдения у пациентов с астмой указывают на непосредственное участие ГК в патофизиологии аллергических заболеваний респираторного тракта и демонстрируют изменение содержания ГК при персистирующем и более тяжелом течении бронхиальной астмы [75]. Иницирование и поддержание аллергической астмы зависят от баланса между накоплением ГК с низкой и высокой молекулярной массой [76]. Экспрессия ГК в апикальном слое мукозального эпителия обеспечивает активность биения ресничек и влияет на активность мукоцилиарного клиренса, а терапия экзогенной ГК приводит к улучшению состояния верхних дыхательных путей [77].

Уровень и активность протеиназ

В качестве биомаркеров ремоделирования структурных белков широко используется детекция различных протеаз, участвующих в деградации структурных компонентов ЭЦМ. Особое внимание при этом уделяется изучению матриксных металлопротеиназ. Так, например, MMP-2, MMP-9 и MMP-13 вызывают опосредованное разрушение коллагена типов I, III, V и VI [78–80]. Фактически комбинация специфической протеазы, которая активируется при конкретном заболевании, и белка ЭЦМ, который экспрессируется в конкретном органе, может генерировать очень специфический биомаркер (табл. 2).

В последние годы пристальное внимание уделяется роли матриксных протеиназ в физиологическом и патологическом ремоделировании ткани легких. Имеются

Таблица 2

Фрагменты ЭЦМ и их потенциальное использование как биомаркеров заболеваний (по F. Genovese, 2016 [29], с изменениями)

Фрагмент ЭЦМ	Исследуемый субстрат	Белок/протеаза	Заболевания	Источник
C1M	Сыворотка крови	Тип I коллагена/металлопротеиназы	Идиопатический легочный фиброз и ХОБЛ, анкилозирующий спондилит, рак груди и яичников	[81–85]
C2M	Сыворотка крови	Тип II коллагена/металлопротеиназы	Анкилозирующий спондилит, остеоартрит	[84, 86, 87]
CTX-II	Сыворотка крови, синовиальная жидкость	Тип II коллагена/металлопротеиназы	Остеоартрит	[88, 89]
C2C	Сыворотка крови	Тип II коллагена/металлопротеиназы	Остеоартрит	[90]
TIINE	Моча, синовиальная жидкость	Тип II коллагена/металлопротеиназы	Остеоартрит	[91]

Фрагмент ЭЦМ	Исследуемый субстрат	Белок/протеаза	Заболевания	Источник
C3M	Сыворотка крови, моча	Тип III коллагена/металлопротеиназы	Идиопатический легочный фиброз и ХОБЛ, анкилозирующий спондилит, хроническая болезнь почек, рак груди и яичников	[81–84, 92–94]
C3A	Сыворотка крови	Тип III коллагена/ADAMTs	Идиопатический легочный фиброз и ХОБЛ	[82]
C4M	Сыворотка крови	Тип IV коллагена/металлопротеиназы	Анкилозирующий спондилит, ХОБЛ, рак груди и яичников	[81, 82, 84, 92]
C4M12a3	Сыворотка крови	Тип IV коллагена/металлопротеиназа-12	Идиопатический легочный фиброз и ХОБЛ, рак груди и яичников	[50, 81, 85, 92, 95]
C5M	Сыворотка крови	Тип V коллагена/металлопротеиназы	Идиопатический легочный фиброз и ХОБЛ, анкилозирующий спондилит	[80, 82]
C6M	Сыворотка крови	Тип VI коллагена/металлопротеиназы	Идиопатический легочный фиброз, анкилозирующий спондилит, ХОБЛ	[83, 84, 92]
ELM7	Сыворотка крови	Эластин/металлопротеиназа-7	Идиопатический легочный фиброз и ХОБЛ, рак легкого	[61, 62, 65]
EL-NE	Сыворотка крови	Эластин/HNE	ХОБЛ	[62, 65]
ELM	Сыворотка крови	Эластин/металлопротеиназа-9 и -12	ХОБЛ, острый инфаркт миокарда	[65, 96]
ELM2	Сыворотка крови	Эластин/металлопротеиназа-9 и -12	Острый инфаркт миокарда	[96]
VCANM	Плазма	Версикан/металлопротеиназы	Хроническая болезнь почек	[97]
PIIANP	Сыворотка крови	Коллаген типа II/амино-терминальный пропептид	Ревматоидный артрит, остеоартрит	[98]
PRO-C2 (PIIBNP)	Сыворотка крови	Тип II коллагена/металлопротеиназа	Остеоартрит	[34]
Pro-C3	Моча, сыворотка крови	Тип III коллагена/аминопротеиназа	Хроническая болезнь почек, фиброз печени	[93, 99]
Pro-C5	Сыворотка крови	Тип V коллагена/карбоксипропротеиназа	Фиброз печени, ХОБЛ	[85]
TEGE373-374ARGS	Сыворотка крови, синовиальная жидкость	Агрекан/агреканаза	Дегенеративные заболевания суставов	[100]
IPEN341-342FFGV	Сыворотка крови, синовиальная жидкость	Агрекан/металлопротеиназы	Дегенеративные заболевания суставов	[100]
32mer	Хрящ	Агрекан (фрагмент между 341–373)	Дегенеративные заболевания суставов	[101]

данные [102], что экспрессия, регуляция и функция MMP играют ключевую роль в развитии и поддержании адекватной оксигенации как у здоровых людей, так и при различных заболеваниях. В частности, в стрессовых условиях, таких как острая респираторная инфекция и аллергическое воспаление, MMP-2 и MMP-9 могут играть защитную роль, обеспечивая бактериальный клиренс и выработку хемотаксического градиента. Следовательно, понимание экспрессии и функции MMP как при нормальном развитии легких, так и при респираторных заболеваниях может способствовать появлению новых терапевтических технологий.

Матриксные металлопротеиназы разрушают как коллагены, так и протеогликаны [102–106]. Важным является анализ баланса между протеазами ЭЦМ и их ингибиторами. Так, например, при ХОБЛ описан дисбаланс между протеазами и антипротеазами, что подтверждается избытком MMP и относительным дефицитом тканевого ингибитора металлопротеиназы (TIMP) [104].

Некоторые из металлопротеиназ были предложены в качестве биомаркеров состояния ЭЦМ для практического использования, например для измерения отношения TIMP/MMP-9 в супернатантах мокроты или фиброцитах крови у больных с ХОБЛ [107]. По данным Mulyadi с соавт. [108], уровень слюнной MMP-9 не коррелировал с функцией легких у пациентов с ХОБЛ, тогда как возраст (у больных старшей возрастной группы) достоверно коррелировал с уровнями слюнной MMP-3 ($p=0,002$).

Единичные работы посвящены определению уровня отдельных металлопротеиназ при бронхиальной астме [109–112], эозинофильном фасциите [113]. S.U. Naveed с соавт. [114] показали, что у пациентов с астмой уровень MMP-1 дыхательных путей был в 5,4 раза выше, чем у лиц группы контроля, а число тучных клеток было связано с пролиферацией гладких мышц бронхов (ГМБ), тогда как белок MMP-1 ассоциировался с гиперреактивностью дыхательных путей. Авторы делают вывод о том, что MMP-1 активируется трипта-

зой тучных клеток (и это приводит к пролиферативной активности ЭЦМ) и что взаимодействия ГМБ и тучных клеток могут способствовать утяжелению астмы путем кратковременно увеличивающейся активации MMP, роста ГМБ и гиперреактивности дыхательных путей.

Для определения активности MMP может быть использован метод субстратного гель-электрофореза. Интерпретация получаемых результатов сложна и должна учитывать некоторые аспекты. MMP продуцируются в виде пропептидов, и для приобретения протеолитической активности необходимо отщепление части молекулы. Однако даже в отсутствие расщепления пропептида MMP приобретают протеолитическую активность в геле, но не в растворе. Кроме того, избыточная оценка активности протеиназы может происходить с использованием этого метода в образцах, содержащих нековалентные комплексы фермент–ингибитор, такие как MMP и TIMP [115].

Другим гистологическим методом для определения активности протеиназы в тканях является электрофоретическая техника — зимография *in situ*. Замороженные срезы ткани можно инкубировать с флюоресцентно меченным субстратом, чтобы определить локализацию и качественно оценить количество интересующих протеинов [116].

Медиаторы и цитокины, участвующие в метаболизме экстрацеллюлярного матрикса

Метаболизм ЭЦМ регулируется сетью медиаторов и цитокинов, структура которой детализирована в обзорах C.D. Richards, T. Tsuda, E. Schönherg и H.J. Hausser [117–119]. При этом особое внимание уделяется цитокинам, синтезируемым преимущественно макрофагами и врожденными лимфоидными клетками (innate lymphoid cells, ILC). Такие цитокины макрофагов и ILC2, как трансформирующий фактор роста β (TGF- β) и интерлейкин 13 (IL-13), поддерживают активацию фенотипов миофибробластов, продуцирующих компоненты ЭЦМ. В то же время другие цитокины, включая интерлейкин 1 (IL-1), фактор некроза опухоли α (TNF- α), интерферон γ (IFN- γ), могут потенцировать активность металлопротеиназ и/или уменьшить синтез коллагена фибробластами. Изменения метаболизма, возраст и эпигенетические механизмы оказывают четкое влияние на функции фибробластов, что важно учитывать при рассмотрении метаболизма ЭЦМ в условиях нормы и патологии [117].

Одним из наиболее изучаемых в настоящее время медиаторов, регулирующих состояние ЭЦМ, является периостин — белок, экспрессируемый в эпителиальных и матриксных клетках. Он активируется цитокинами, включая IL-4 и IL-13, и участвует в процессах фиброобразования базальной мембраны. M. Hoshino и соавт. [120] исследовали взаимосвязи между толщиной стенки дыхательных путей и периостином сыворотки у пациентов с астмой, не употреблявших стероиды, и установили, что уровень периостина сыворотки

коррелировал с толщиной стенки дыхательных путей при выраженной симптоматике и уменьшался при ингаляционной глюкокортикоидной терапией параллельно с падением содержания эозинофилов мокроты. Фактически уровни периостина могут быть использованы для прогнозирования клинических ответов на различные методы лечения бронхиальной астмы и других аллергических заболеваний, включая методы лечения, основанные на ингибировании эффектов IL-13 [121–123].

К ключевым цитокинам, регулирующим состояние ЭЦМ, относится также TGF- β [124, 125]. Доказано, что TGF- β 1 ингибирует дифференцировку миофибробластов и деградацию ЭЦМ [126]. TGF- β 1 также является сильным фиброгенным агентом: он индуцирует выработку коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса, снижает экспрессию MMP, которые разрушают внеклеточный матрикс и соединительную ткань, и активирует синтез ингибиторов протеаз [127]. Структурный дефицит белка фибриллина 1 приводит к нарушению регуляции активности TGF- β [128, 129].

Кроме непосредственного определения структур ЭЦМ, их дериватов и участвующих в деградации и синтезе протеаз, а также медиаторов и цитокинов в тканях и жидкостях организма, выполняется анализ состояния генов, отвечающих за синтез соответствующих элементов [130, 131]. Широкое использование данных методик в настоящее время лимитировано доступностью методики секвенирования, однако в последние годы наметился существенный прогресс в данной области.

Методы исследования экстрацеллюлярного матрикса

Поскольку обширная информация о состоянии ЭЦМ получена в основном при использовании общих методов исследования, будут рассмотрены методы мониторинга, не ориентированные или только частично ориентированные на определение биомаркеров. Кроме того, будут кратко описаны методы, которые могут быть применены для установления высокоспецифических биомаркеров состояния ЭЦМ.

Методы, не использующие или частично использующие биомаркеры

Ультроструктурный анализ экстрацеллюлярного матрикса. Оценка ультроструктуры ЭЦМ осуществляется преимущественно посредством световой и электронной микроскопии. Для выполнения данных методов исследования проводятся предварительная подготовка молекулярных изолятов и образцов тканей, которая может включать негативное окрашивание, иммунологическую маркировку, ротационное затенение [132].

Нелинейно-оптическая визуализация белков экстрацеллюлярного матрикса. Методы нелиней-

ной визуализации, такие как микроскопия мультигармонической визуализации, стали мощными подходами для визуализации биологических структур без меток. Мультигармонические сигналы генерируются, когда интенсивное электромагнитное поле распространяется через образец, который либо имеет определенную молекулярную ориентацию, либо проявляет определенные физические свойства. Он может предоставлять дополнительную морфологическую информацию при интеграции с другими методами нелинейного оптического изображения, такими как двухфотонное возбуждение (TPE). Способность визуализировать биологические образцы без дополнительных генетически нацеленных или химических пятен делает этот метод хорошо подходящим для тканей, богатых коллагеном и эластином [133].

Методы визуализации, анализа структуры и деградации белков экстрацеллюлярного матрикса. Разработаны методы, которые осуществляют как визуализацию сложных матриц *in vivo*, так и рутинный биохимический анализ отдельных белков ЭЦМ. Общие методы визуализации компонентов ЭЦМ включают протоколы для генерации второй гармоники, сканирующей электронной микроскопии, а также гистологические методы выявления локализации и анализа деградации компонентов ЭЦМ — иммуногистохимию, окрашивание трихромом и зимографию *in situ*.

Кроме того, разработан метод определения миграции и инвазии клеток (a common transwell invasion assay) — новый метод визуализации в реальном масштабе времени для исследования клеточного поведения в отношении коллагена и других представляющих интерес белков ЭЦМ.

Сохраняют свою актуальность классические биохимические методы, основанные преимущественно на использовании электрофореза и применяемые при анализе белков ЭЦМ [134].

Гистохимические методы исследования экстрацеллюлярного матрикса. Толщину коллагеновых волокон, а также упаковку коллагена можно определить гистохимически с помощью окрашивания пикросириусом красным и последующей поляризационной микроскопии. Исследование волокон коллагена этим методом помогает дифференцировать нормально упакованные толстые пучки коллагеновых волокон и патологический коллаген (тонкий и слабо упакованный неорганизованный коллаген) [135].

Микроскопия второй гармоники. Детальная оценка состояния внеклеточного матрикса возможна с использованием современного высокоразрешающего метода — нелинейной микроскопии в режимах регистрации сигнала генерации второй гармоники [136]. Микроскопия второй гармоники — это метод нелинейной визуализации, основанный на поляризационно-зависимой микроскопии. В этом случае оптическое или ИК-лазерное излучение направляется на образец, в котором за счет нелинейно-оптических свойств материала генерируется излучение удвоенной частоты.

Хотя доля преобразованного излучения мала, вторую гармонику очень легко регистрировать за счет высокой интенсивности исходного лазерного излучения и отсутствия помех в области удвоенной частоты. Метод очень чувствителен к изменению свойств поверхностей, механическим напряжениям и состоянию биологических объектов. Он позволяет охарактеризовать молекулярные нелинейно-оптические свойства коллагена и определить трехмерную структуру волокон коллагена внутри сухожилия. Основным его преимуществом является возможность визуализировать как живые, неокрашенные и незафиксированные ткани, так и фиксированные [137]. Дополнительным преимуществом данного метода служит возможность одновременного использования с другими методами визуализации в одном образце [138].

Томографические и ультразвуковые методы. K. Gorska с соавт. [139] применяли томографию высокого разрешения и эндобронхиальное ультразвуковое исследование при легкой и умеренной астме и ХОБЛ для оценки толщины стенки дыхательных путей и пришли к выводу, что ультразвуковое исследование более чувствительно, хотя отмечается хорошая сопоставимость результатов обоих методов. R.A. Hartley с соавт. [140] сравнивали торакальные количественные томографические параметры и функцию легких у больных астмой и ХОБЛ и установили, что при данных заболеваниях наблюдается перерастяжение дистальных отделов бронхиол и формирование воздушных ловушек, имеющее связь с нарушениями функций дыхания.

Метод эндоскопической ОКТ был использован в работе M. Ding с соавт. [141] для оценки стадии ХОБЛ и поиска ассоциации между патологией дыхательных путей различного калибра у этих пациентов, а также для анализа архитектуры дыхательных путей у злостных курильщиков с нормальным ОФВ1 и здоровых людей, никогда ранее не куривших. Установлена высокая корреляционная взаимосвязь между данными гистологического исследования и ОКТ в оценке ремоделирования бронхиальной стенки [142, 143]. Были идентифицированы ОКТ-картины рассеяния низкой интенсивности, соответствующие бронхиальному и перибронхиальному отеку (т.е. избыточной гидрофильности ЭЦМ), и картина рассеяния высокой интенсивности при эпителиальном расслаивании [144].

Методы, ориентированные на анализ биомаркеров

Для обнаружения биомаркеров состояния ЭЦМ применяются иммуноферментные, радиоиммунные, иммунологические и иммуногистохимические методы [134]. С точки зрения клинического мониторинга наиболее перспективно использование образцов, полученных из жидких биосубстратов, так как это предполагает неинвазивный (моча) или малоинвазивный (сыворотка или плазма крови) отбор образцов. В этих биосубстра-

тах могут быть определены растворимые производные компонентов ЭЦМ (производные эластина, коллагена, фибронектин, гиалуронан). Изучение биоптатов тканей (инвазивный метод) или интраоперационных образцов может быть использовано для исследования практически всех компонентов матрикса, однако не подходит для непрерывного мониторинга.

В качестве примеров использования современных биохимических методов для определения биомаркеров состояния ЭЦМ можно указать следующие.

Определение суммарного содержания белков. Хотя суммарное содержание белка в образцах тканей или клеток и не относится к показателям биомаркеров ЭЦМ, но часто является необходимой характеристикой, поскольку позволяет установить относительное количество компонентов ЭЦМ, продуктов их синтеза и деградации. Уровни суммарного содержания белков можно быстро оценить, используя простой колориметрический анализ аминокислотной смеси, образующейся в ходе кислотного гидролиза образца. Реактивом является нингидрин (2,2-дигидроксииндан-1,3-дион), дающий интенсивное синее окрашивание (575 нм) при соединении с первичными аминогруппами свободных аминокислот, которое легко определяется, в том числе и стандартными роботизированными колориметрами. Для калибровки необходимы стандартные образцы гидролизата белков, которые коммерчески доступны или могут быть синтезированы самостоятельно на основе любого чистого сухого белка. Кислотный гидролиз ткани проводится под действием концентрированной HCl. Полное описание методики анализа можно найти в работе I. Stoilov и соавт. [145].

Определение эластина методами иммуноанализа. Эластин является нерастворимым белком, который не подвержен химическим методам экстракции (включая воздействие поверхностно-активных веществ, хаотропных агентов, восстановителей и протеаз) и может быть переведен в растворимую форму только специальными методами сольubilизации. После этого определение эластина может быть выполнено на основе реакции десмозина или изодесмозина, а определение концентраций продуктов присоединения десмозина — методами высокоэффективной жидкостной хроматографии, радиоиммунологическим анализом (РИА), ферментативным иммуносорбентным анализом (ИФА), а также методами капиллярного электрофореза или масс-спектрометрии. При этом только РИА и ИФА обеспечивают высокую производительность анализа при серийных исследованиях. Подробные протоколы и обзорные исследования этих методов см. в работе I. Stoilov и соавт. [145].

Определение гидроксипролина. Гидроксипролин является специфической аминокислотой фибриллярного коллагена, составляющей около 13,5% данного белка. Он легко определяется колориметрическим методом в гидролизате белковой ткани на основе реакции с реактивом Эрлиха, приводящей к интенсивному

красному окрашиванию (550 нм). Этот метод позволяет определять гидроксипролин с хорошей точностью даже в микрограммовых образцах. Следует отметить, что гидроксипролин содержится не только в коллагене, но и в эластине. Однако концентрация его там обычно порядка 1%, поэтому эластин не вносит существенной погрешности в мониторинг коллагена на основе гидроксипролина [146].

Определение активности лизил-оксидазы. Лизил-оксидаза и родственные ей ферменты организмов млекопитающих катализируют экстрацеллюлярные процессы оксидативной деаминации лизина в эластине, а также лизина и гидроксизина в составе коллагена. Образующиеся альдегидные формы белков затем спонтанно формируют лизиновые мостики, необходимые для нормального функционирования тканей. Нарушения нормального протекания данного процесса могут свидетельствовать о появлении фиброза и других патологических состояний, в связи с чем определение активности лизил-оксидазы является весьма важным маркером мониторинга состояния ЭЦМ. Исследование активности лизил-оксидазы может быть проведено методом РИА, однако это требует сложных стадий биосинтеза тритиевых меток, что не позволяет использовать его в качестве метода непрерывного мониторинга ЭЦМ.

Более простой путь анализа — определение выделяющейся в ходе оксидативной деаминации лизина (гидроксизина) перекиси водорода на основе ферментативного окисления гомованильной кислоты или амплекса-красного в присутствии пероксидазы хрена с регистрацией продуктов окисления флюоресцентным методом (гомованильная кислота — 315/425 нм, амплекс-красный — 563/587 нм). Хотя этот метод примерно в два раза уступает по чувствительности РИА, он позволяет проводить анализ серийных образцов, в том числе с использованием роботизированных аналитических комплексов. Протоколы извлечения тканей, пробоподготовки и анализа представлены в работе P.C. Trackman и соавт. [147].

Определение фибронектина плазмы. Фибронектин представляет собой гликопротеин, присутствующий в организме большинства млекопитающих в виде двух форм — нерастворимой в виде фибриллярной сети на клеточной поверхности и во внеклеточном матриксе и растворимой формой в крови. Фибронектин синтезируется практически всеми видами клеток за исключением некоторых видов нервных клеток. Как растворимая форма он синтезируется преимущественно гепатоцитами в клетках ретикуло-эндотелиальной системы плазмы и циркулирует при концентрации, близкой к микромолярной. Фибронектин собирается в фибриллах внеклеточного матрикса на поверхности клеток вместе с локально продуцируемым клеточным фибронектином. Наиболее распространенным современным методом анализа содержания фибронектина в плазме является ИФА с использованием коммерческих тест-систем [148].

Определение гиалуронана (гиалуронової кислоты). Это гликозаминогликан, высокомолекулярный полисахарид с неразветвленной основной цепью, состоящей из чередующихся остатков β -(1-4)-глюкуроновой кислоты и β -(1-3)-N-ацетилглюкозамина. Каждый димер рассматривается как одна структурная единица и имеет молекулярную массу около 450 Да. Гиалуронан продуцируется в основном фибробластами и другими специализированными клетками соединительной ткани. Он играет структурную роль в соединительнотканном матриксе и участвует в различных межклеточных взаимодействиях. Гиалуронан широко распространен в организме и может обнаруживаться в свободном виде в плазме, сыворотке или синовиальной жидкости [149]. Методы его исследования — электрофорез, ИФА. В тест-системах для определения гиалуронана методом ИФА производства Corgenix Medical Corp. используется белок, связывающий ГК, полученный из хрящей быка.

Иммуногистохимические методы. Иммуногистохимическое исследование — метод микроскопического изучения тканей, обеспечивающий наиболее специфическое выявление в них искомым веществ. Он основан на обработке срезов маркированными специфическими антителами к выявляемому веществу, которое в данной ситуации служит антигеном. Впервые способ окрашивания клеточных и тканевых компонентов с помощью специфических антител для микроскопического исследования был предложен А. Соопс и соавт. в 1941 г.; позднее были разработаны антитела, помеченные не флюоресцентными красителями, а ферментами.

Существует большое количество способов использования методов иммуногистохимии для оценки белков ЭЦМ и их деградации. Иммуногистохимические методы позволяют определить локализацию различных белков внеклеточного матрикса в тканях при помощи антител, направленных против интересующего белка ЭЦМ. Например, антитела к коллагену типа I и типа IV, ламинину и фибронектину были использованы для демонстрации присутствия и определения локализации этих компонентов ЭЦМ в субмезотелиальной зоне брюшины человека [150].

Для оценки деградации матрикса разработаны более сложные подходы к использованию иммуногистохимии. Могут применяться антитела, которые распознают неоэпитопы, присутствующие после деградации коллагена под действием металлопротеиназ. Например, антитело против неоэпитопа коллагена типа II было использовано для оценки роли MMP-13 в развитии костной ткани [151].

Физико-химические способы выделения и подготовка компонентов экстрацеллюлярного матрикса. В большинстве случаев анализ биомаркеров с целью выделения и концентрирования компонентов ЭЦМ, продуктов их синтеза и деградации выполняется с помощью методов электрофореза и высокочувствительной жидкостной хроматографии.

Однако преимущественно эти методы используются для определения маркеров метаболизма ЭЦМ в жидких биосубстратах. В последнее время разрабатываются подходы к изучению компонентов ЭЦМ, включающие предварительную пробоподготовку нежидких тканевых образцов, что дает возможность в последующем получить соответствующие субстраты, позволяющие использовать методы аналитической химии. Так, например, уровни эластина и коллагена в тканях часто трудно измерить из-за ограниченной растворимости каждого белка. Для этого их подвергают кислотному гидролизу, который расщепляет ассоциированные с тканью белки до составляющих их аминокислот. Затем определяют количество аминокислот-маркеров, уникальных для каждого белка (десмосин — для эластина и гидроксипролин — для коллагена). Общее содержание белка также можно измерить по части гидролизата с использованием анализа свободных аминогрупп [145].

Заключение

Определение уровней маркеров ЭЦМ на сегодняшний день является одним из важных и перспективных методов мониторинга состояния ЭЦМ. Дальнейшее изучение известных и вновь выявляемых маркеров ЭЦМ и его состояния открывает широкие перспективы для понимания патогенеза заболеваний, мультиморбидности и, соответственно, разработки новых методов лечения различных болезней. Несмотря на значительный прогресс в данной области, остается множество нерешенных вопросов, связанных с реализацией методов мониторинга. Во-первых, это малая доступность ЭЦМ ряда органов и тканей для исследований, что диктует необходимость поиска не только информативных, но и неинвазивных или малоинвазивных маркеров. Во-вторых, имеющиеся методики выделения и анализа маркеров по большей части либо сложны в исполнении и малодоступны, либо дорогостоящи (секвенирование, методы иммуногистохимии). Дальнейшие исследования должны быть направлены на поиск новых, более доступных маркеров состояния ЭЦМ, всестороннюю оценку их роли в физиологии и патогенезе и совершенствование методов их высокоточного и экспресс-определения.

Финансирование исследования. Работа проведена на личные средства авторов.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие финансовых и других конфликтов интересов, способных оказать влияние на их работу.

Литература/References

1. Pozzi A., Yurchenco P.D., Iozzo R.V. The nature and biology of basement membranes. *Matrix Biol* 2017; 57–58: 1–11, <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2016.12.009>.
2. Mouw J.K., Ou G., Weaver V.M. Extracellular matrix

assembly: a multiscale deconstruction. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(12): 771–785, <https://doi.org/10.1038/nrm3902>.

3. Eliseeva T.I., Tush E.V., Krasilnikova S.V., Kuznetsova S.V., Larin R.A., Kubysheva N.I., Khaletskaya O.V., Potemina T.E., Ryazantsev S.V., Ignatov S.K. Metabolism of the extracellular matrix in bronchial asthma (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2018; 10(4): 220–234, <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.25>.

4. Boulet L.P. Airway remodeling in asthma: update on mechanisms and therapeutic approaches. *Curr Opin Pulm Med* 2018; 24(1): 56–62, <https://doi.org/10.1097/mcp.0000000000000441>.

5. Bonnans C., Chou J., Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(12): 786–801, <https://doi.org/10.1038/nrm3904>.

6. Liu Y.D., Sun X., Zhang Y., Wu H.J., Wang H., Yang R. Protocatechuic acid inhibits TGF-beta1-induced proliferation and migration of human airway smooth muscle cells. *J Pharmacol Sci* 2019; 139(1): 9–14, <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2018.10.011>.

7. Hellmund K.S., Koksich B. Self-assembling peptides as extracellular matrix mimics to influence stem cell's fate. *Front Chem* 2019; 7: 172, <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00172>.

8. Hsu C.W., Wang J.C., Liao W.I., Chien W.C., Chung C.H., Tsao C.H., Wu Y.F., Liao M.T., Tsai S.H. Association between malignancies and Marfan syndrome: a population-based, nested case-control study in Taiwan. *BMJ Open* 2017; 7(10): e017243, <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-017243>.

9. Cox T.R., Eler J.T. Remodeling and homeostasis of the extracellular matrix: implications for fibrotic diseases and cancer. *Dis Model Mech* 2011; 4(2): 165–178, <https://doi.org/10.1242/dmm.004077>.

10. Kising A., Lust R.M., Katwa L.C. What is the role of peptide fragments of collagen I and IV in health and disease? *Life Sci* 2019, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.042>.

11. Zuo H., Cattani-Cavaliere I., Valenca S.S., Musheshe N., Schmidt M. Function of cAMP scaffolds in obstructive lung disease: Focus on epithelial-to-mesenchymal transition and oxidative stress. *Br J Pharmacol* 2019, <https://doi.org/10.1111/bph.14605>.

12. Gunay M., Dogru M., Celik G., Gunay B.O. Swept-source optical coherence tomography analysis in asthmatic children under inhaled corticosteroid therapy. *Cutan Ocul Toxicol* 2019; 38(2): 131–135, <https://doi.org/10.1080/15569527.2018.1539009>.

13. Ito J.T., Lourenco J.D., Righetti R.F., Tiberio I., Prado C.M., Lopes F. Extracellular matrix component remodeling in respiratory diseases: what has been found in clinical and experimental studies? *Cells* 2019; 8(4): 342, <https://doi.org/10.3390/cells8040342>.

14. Qi Y., Fang L., Stolz D., Tamm M., Roth M. Long acting β_2 -agonist's activation of cyclic AMP cannot halt ongoing mitogenic stimulation in airway smooth muscle cells. *Pulm Pharmacol Ther* 2019; 56: 20–28, <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2019.03.005>.

15. Michalek I.M., Lelen-Kaminska K., Caetano Dos Santos F.L. Peptides stimulating synthesis of extracellular matrix used in anti-ageing cosmetics: are they clinically tested? A systematic review of the literature. *Australas J Dermatol* 2019, <https://doi.org/10.1111/ajd.13036>.

16. Awasthi N., Mikels-Vigdal A.J., Stefanutti E., Schwarz M.A., Monahan S., Smith V., Schwarz R.E.

Therapeutic efficacy of anti-MMP9 antibody in combination with nab-paclitaxel-based chemotherapy in pre-clinical models of pancreatic cancer. *J Cell Mol Med* 2019; 23(6): 3878–3887, <https://doi.org/10.1111/jcmm.14242>.

17. Eliseeva T.I., Krasilnikova S.V., Geppe N.A., Babaev S.Y., Tush E.V., Khaletskaya O.V., Ovsyannikov D.Y., Balabolkin I.I., Ignatov S.K., Kubysheva N.I. Effect of nasal obstructive disorders on sinonasal symptoms in children with different levels of bronchial asthma control. *Can Respir J* 2018; 2018: 4835823, <https://doi.org/10.1155/2018/4835823>.

18. Eliseeva T.I., Krasilnikova S.V., Babaev S.Y., Novozhilov A.A., Ovsyannikov D.Y., Ignatov S.K., Kubysheva N.I., Shakhov A.V. Dependence of anterior active rhinomanometry indices on nasal obstructive disorders in children with atopic bronchial asthma complicated by nasal symptoms. *Biomed Res Int* 2018; 2018: 1869613, <https://doi.org/10.1155/2018/1869613>.

19. Krasilnikova S.V., Eliseeva T.I., Popov K.S., Tush E.V., Khaletskaya O.V., Ovsyannikov D.Y., Balabolkin I.I., Shakhov A.V., Prahov A.V. Multimorbidity of upper respiratory tract pathology in children with bronchial asthma. *Pediatrics* 2018; 97(2): 19–26, <https://doi.org/10.24110/0031-403x-2018-97-2-19-26>.

20. Krasilnikova S.V., Eliseeva T.I., Shakhov A.V., Geppe N.A. Capabilities of nasal videoendoscopy in diagnostics of pharyngeal tonsil condition in children with bronchial asthma. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2016; 8(3): 126–136, <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.3.15>.

21. Krasilnikova S.V., Eliseeva T.I., Shakhov A.V., Prakhov A.V., Balabolkin I.I. Video endoscopic method of estimation state of nasal and pharyngonasal cavity in children with bronchial asthma. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2012; (3): 41–45.

22. Krasil'nikova S.V., Eliseyeva T.I., Remizova T.M., Soodaeva S.K., Shakhov A.V., Prakhov A.V. Nose and paranasal sinuses pathology in children with bronchial asthma. *Pul'monologiya* 2012; (4): 45–49, <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-4-45-49>.

23. Bousquet J., Anto J.M., Wickman M., Keil T., Valenta R., Haahela T., Lodrup Carlsen K., van Hage M., Akdis C., Bachert C., Akdis M., Auffray C., Annesi-Maesano I., Bindslev-Jensen C., Cambon-Thomsen A., Carlsen K.H., Chatzi L., Forastiere F., Garcia-Aymerich J., Gehrig U., Guerra S., Heinrich J., Koppelman G.H., Kowalski M.L., Lambrecht B., Lupinek C., Maier D., Melen E., Momas I., Palkonen S., Pinart M., Postma D., Siroux V., Smit H.A., Sunyer J., Wright J., Zuberbier T., Arshad S.H., Nadif R., Thijs C., Andersson N., Asarnoj A., Ballardini N., Ballereau S., Bedbrook A., Benet M., Bergstrom A., Brunekreef B., Burte E., Calderon M., De Carlo G., Demoly P., Eller E., Fantini M.P., Hammad H., Hohman C., Just J., Kerkhof M., Kogevinas M., Kull I., Lau S., Lemonnier N., Mommers M., Nawijn M., Neubauer A., Oddie S., Pellet J., Pin I., Porta D., Saes Y., Skrindo I., Tischer C.G., Torrent M., von Hertzen L. Are allergic multimorbidities and IgE polysensitization associated with the persistence or re-occurrence of foetal type 2 signalling? The MeDALL hypothesis. *Allergy* 2015; 70(9): 1062–1078, <https://doi.org/10.1111/all.12637>.

24. Spiropoulou A., Zareifopoulos N., Bellou A., Spiropoulos K., Tsalikis L. Review of the association between periodontitis and chronic obstructive pulmonary disease in smokers. *Monaldi Arch Chest Dis* 2019; 89(1), <https://doi.org/10.4081/monaldi.2019.1018>.

25. Zhang S.L., Du X., Chen Y.Q., Tan Y.S., Liu L. Potential medication treatment according to pathological mechanisms in abdominal aortic aneurysm. *J Cardiovasc Pharmacol* 2018; 71(1): 46–57, <https://doi.org/10.1097/fjc.0000000000000540>.
26. Bayer M. Reference values of osteocalcin and procollagen type I N-propeptide plasma levels in a healthy Central European population aged 0-18 years. *Osteoporos Int* 2014; 25(2): 729–736, <https://doi.org/10.1007/s00198-013-2485-4>.
27. Eliseeva T.I., Geppe N.A., Tush E.V., Khaletskaya O.V., Balabolkin I.I., Bulgakova V.A., Kubysheva N.I., Ignatov S.K. Body height of children with bronchial asthma of various severities. *Can Respir J* 2017; 2017: 8761404, <https://doi.org/10.1155/2017/8761404>.
28. Eliseeva T.I., Geppe N.A., Ignatov S.K., Soodaeva S.K., Tush E.V., Khaletskaya O.V., Potemina T.E., Malakhov A.B., Kubysheva N.I., Solovyov V.A. Relative body mass index as a new tool for nutritional status assessment in children and adolescents with bronchial asthma. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(1): 135–148, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.1.18>.
29. Genovese F., Karsdal M.A. Protein degradation fragments as diagnostic and prognostic biomarkers of connective tissue diseases: understanding the extracellular matrix message and implication for current and future serological biomarkers. *Expert Rev Proteomics* 2016; 13(2): 213–225, <https://doi.org/10.1586/14789450.2016.1134327>.
30. McKleroy W., Lee T.H., Atabai K. Always cleave up your mess: targeting collagen degradation to treat tissue fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2013; 304(11): L709–L721, <https://doi.org/10.1152/ajplung.00418.2012>.
31. Chalikias G.K., Tziakas D.N. Biomarkers of the extracellular matrix and of collagen fragments. *Clin Chim Acta* 2015; 443: 39–47, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.06.028>.
32. Woitge H.W., Seibel M.J. Markers of bone and cartilage turnover. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2017; 125(7): 454–469, <https://doi.org/10.1055/s-0043-106438>.
33. Juhl P., Bay-Jensen A.C., Karsdal M., Siebuhr A.S., Franchimont N., Chavez J. Serum biomarkers of collagen turnover as potential diagnostic tools in diffuse systemic sclerosis: a cross-sectional study. *PLoS One* 2018; 13(12): e0207324, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207324>.
34. Luo Y., He Y., Reker D., Gudmann N.S., Henriksen K., Simonsen O., Ladel C., Michaelis M., Mobasher A., Karsdal M., Bay-Jensen A.C. A novel high sensitivity type II collagen blood-based biomarker, PRO-C2, for assessment of cartilage formation. *Int J Mol Sci* 2018; 19(11): 3485, <https://doi.org/10.3390/ijms19113485>.
35. Nielsen M.J., Veidal S.S., Karsdal M.A., Orsnes-Leeming D.J., Vainer B., Gardner S.D., Hamatake R., Goodman Z.D., Schuppan D., Patel K. Plasma Pro-C3 (N-terminal type III collagen propeptide) predicts fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2015; 35(2): 429–437, <https://doi.org/10.1111/liv.12700>.
36. Kim S.G., Lee D.S., Lee S., Jang J.H. Osteocalcin/fibronectin-functionalized collagen matrices for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A* 2015; 103(6): 2133–2140, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35351>.
37. Abdul Roda M., Xu X., Abdalla T.H., Sadik M., Szul T., Bratcher P.E., Viera L., Solomon G.M., Wells J.M., McNicholas C.M., Redegeld F.A., Folkerts G., Blalock J.E., Gaggar A. Proline-glycine-proline peptides are critical in the development of smoke-induced emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2019, <https://doi.org/10.1165/rcmb.2018-0216oc>.
38. Bondarenko N.S., Shneiderman A.N., Guseva A.A., Umarova B.A. Prolyl-glycyl-proline (PGP) peptide prevents an increase in vascular permeability in inflammation. *Acta Naturae* 2017; 9(1): 52–55, <https://doi.org/10.32607/20758251-2017-9-1-52-55>.
39. Ashmarin I.P., Karazeeva E.P. Search for evolutionary ancient, relict regulatory peptides. *J Evol Biochem Phys* 2007; 43(1): 123–125, <https://doi.org/10.1134/s0022093007010139>.
40. DeLeon-Pennell K.Y., Meschiarri C.A., Jung M., Lindsey M.L. Matrix metalloproteinases in myocardial infarction and heart failure. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2017; 147: 75–100, <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.001>.
41. Lindsey M.L., Iyer R.P., Zamilpa R., Yabluchanskiy A., DeLeon-Pennell K.Y., Hall M.E., Kaplan A., Zouein F.A., Bratton D., Flynn E.R., Cannon P.L., Tian Y., Jin Y.F., Lange R.A., Tokmina-Roszyk D., Fields G.B., de Castro Bras L.E. A novel collagen matricryptin reduces left ventricular dilation post-myocardial infarction by promoting scar formation and angiogenesis. *J Am Coll Cardiol* 2015; 66(12): 1364–1374, <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.07.035>.
42. Palmieri D., Camardella L., Ulivi V., Guasco G., Manduca P. Trimer carboxyl propeptide of collagen I produced by mature osteoblasts is chemotactic for endothelial cells. *J Biol Chem* 2000; 275(42): 32658–32663, <https://doi.org/10.1074/jbc.m002698200>.
43. Aikio M., Alahuhta I., Nurmenniemi S., Suojanen J., Palovuori R., Teppo S., Sorsa T., Lopez-Otin C., Pihlajaniemi T., Salo T., Heljasvaara R., Nyberg P. Arresten, a collagen-derived angiogenesis inhibitor, suppresses invasion of squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2012; 7(12): e51044, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051044>.
44. Lauten A., Gerhard-Garcia A., Suhr F., Fischer J.H., Figulla H.R., Bloch W. Impact of ischemia-reperfusion on extracellular matrix processing and structure of the basement membrane of the heart. *PLoS One* 2014; 9(3): e92833, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092833>.
45. Mundel T.M., Kalluri R. Type IV collagen-derived angiogenesis inhibitors. *Microvasc Res* 2007; 74(2–3): 85–89, <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2007.05.005>.
46. Bond R.A., Lucero Garcia-Rojas E.Y., Hegde A., Walker J.K.L. Therapeutic potential of targeting β -arrestin. *Front Pharmacol* 2019; 10: 124, <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00124>.
47. Okada M., Yamawaki H. A current perspective of canstatin, a fragment of type IV collagen alpha 2 chain. *J Pharmacol Sci* 2019; 139(2): 59–64, <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2018.12.001>.
48. Harkness L.M., Weckmann M., Kopp M., Becker T., Ashton A.W., Burgess J.K. Tumstatin regulates the angiogenic and inflammatory potential of airway smooth muscle extracellular matrix. *J Cell Mol Med* 2017; 21(12): 3288–3297, <https://doi.org/10.1111/jcmm.13232>.
49. Nissen G., Hollaender H., Tang F.S.M., Wegmann M., Lunding L., Vock C., Bachmann A., Lemmel S., Bartels R., Oliver B.G., Burgess J.K., Becker T., Kopp M.V., Weckmann M. Tumstatin fragment selectively inhibits neutrophil infiltration in experimental asthma exacerbation. *Clin Exp Allergy* 2018; 48(11): 1483–1493, <https://doi.org/10.1111/cea.13236>.
50. Ronnow S.R., Sand J.M.B., Langholm L.L., Manon-Jensen T., Karsdal M.A., Tal-Singer R., Miller B.E., Vestbo J., Leeming D.J. Type IV collagen turnover is predictive of

mortality in COPD: a comparison to fibrinogen in a prospective analysis of the ECLIPSE cohort. *Respir Res* 2019; 20(1): 63, <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1026-x>.

51. Dupont-Deshorgue A., Oudart J.B., Brassart B., Deslee G., Perotin J.M., Diebold M.D., Monboisse J.C., Ramont L., Brassart-Pasco S. A competitive enzyme-linked immunosorbent assay for quantification of tetrastatin in body fluids and tumor extracts. *Anal Biochem* 2015; 482: 16–21, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.04.023>.

52. Monboisse J.C., Oudart J.B., Ramont L., Brassart-Pasco S., Maquart F.X. Matrikines from basement membrane collagens: a new anti-cancer strategy. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1840(8): 2589–2598, <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.12.029>.

53. Koskimaki J.E., Karagiannis E.D., Tang B.C., Hammers H., Watkins D.N., Pili R., Popel A.S. Pentastatin-1, a collagen IV derived 20-mer peptide, suppresses tumor growth in a small cell lung cancer xenograft model. *BMC Cancer* 2010; 10(1): 29, <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-29>.

54. Gunda V., Verma R.K., Sudhakar Y.A. Inhibition of elastin peptide-mediated angiogenic signaling mechanism(s) in choroidal endothelial cells by the alpha6(IV)NC1 collagen fragment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(13): 7828–7835, <https://doi.org/10.1167/iov.12-10870>.

55. Lee C., Kim M., Lee J.H., Oh J., Shin H.H., Lee S.M., Scherer P.E., Kwon H.M., Choi J.H., Park J. COL6A3-derived endotrophin links reciprocal interactions among hepatic cells in the pathology of chronic liver disease. *J Pathol* 2019; 247(1): 99–109, <https://doi.org/10.1002/path.5172>.

56. Zhao Y., Gu X., Zhang N., Kolonin M.G., An Z., Sun K. Divergent functions of endotrophin on different cell populations in adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2016; 311(6): E952–E963, <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00314.2016>.

57. Bu D., Crewe C., Kusminski C.M., Gordillo R., Ghaben A.L., Kim M., Park J., Deng H., Xiong W., Liu X.Z., Lønning P.E., Halberg N., Rios A., Chang Y., Gonzalez A., Zhang N., An Z., Scherer P.E. Human endotrophin as a driver of malignant tumor growth. *JCI Insight* 2019; 4(9), <https://doi.org/10.1172/jci.insight.125094>.

58. Park J., Scherer P.E. Adipocyte-derived endotrophin promotes malignant tumor progression. *J Clin Invest* 2012; 122(11): 4243–4256, <https://doi.org/10.1172/jci63930>.

59. Sun K., Park J., Gupta O.T., Holland W.L., Auerbach P., Zhang N., Goncalves Marangoni R., Nicoloso S.M., Czech M.P., Varga J., Ploug T., An Z., Scherer P.E. Endotrophin triggers adipose tissue fibrosis and metabolic dysfunction. *Nat Commun* 2014; 5(1): 3485, <https://doi.org/10.1038/ncomms4485>.

60. Park J., Morley T.S., Scherer P.E. Inhibition of endotrophin, a cleavage product of collagen VI, confers cisplatin sensitivity to tumours. *EMBO Mol Med* 2013; 5(6): 935–948, <https://doi.org/10.1002/emmm.201202006>.

61. Kristensen J.H., Larsen L., Dasgupta B., Brodmerkel C., Curran M., Karsdal M.A., Sand J.M., Willumsen N., Knox A.J., Bolton C.E., Johnson S.R., Hagglund P., Svensson B., Leeming D.J. Levels of circulating MMP-7 degraded elastin are elevated in pulmonary disorders. *Clin Biochem* 2015; 48(16–17): 1083–1088, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2015.07.009>.

62. Sand J.M., Knox A.J., Lange P., Sun S., Kristensen J.H., Leeming D.J., Karsdal M.A., Bolton C.E., Johnson S.R. Accelerated extracellular matrix turnover during exacerbations

of COPD. *Respir Res* 2015; 16(1): 69, <https://doi.org/10.1186/s12931-015-0225-3>.

63. Kristensen J.H., Karsdal M.A., Sand J.M., Willumsen N., Diefenbach C., Svensson B., Hagglund P., Oersnes-Leeming D.J. Serological assessment of neutrophil elastase activity on elastin during lung ECM remodeling. *BMC Pulm Med* 2015; 15: 53, <https://doi.org/10.1186/s12890-015-0048-5>.

64. Mecham R.P. Elastin in lung development and disease pathogenesis. *Matrix Biol* 2018; 73: 6–20, <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.005>.

65. Ronnow S.R., Langholm L.L., Sand J.M.B., Thorlacius-Ussing J., Leeming D.J., Manon-Jensen T., Tal-Singer R., Miller B.E., Karsdal M.A., Vestbo J. Specific elastin degradation products are associated with poor outcome in the ECLIPSE COPD cohort. *Sci Rep* 2019; 9(1): 4064, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40785-2>.

66. Turino G.M., Ma S., Lin Y.Y., Cantor J.O., Luisetti M. Matrix elastin: a promising biomarker for chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184(6): 637–641, <https://doi.org/10.1164/rccm.201103-0450pp>.

67. Turino G.M., Lin Y.Y., He J., Cantor J.O., Ma S. Elastin degradation: an effective biomarker in COPD. *COPD* 2012; 9(4): 435–438, <https://doi.org/10.3109/15412555.2012.697753>.

68. Iadarola P., Luisetti M. The role of desmosines as biomarkers for chronic obstructive pulmonary disease. *Expert Rev Respir Med* 2013; 7(2): 137–144, <https://doi.org/10.1586/ers.13.4>.

69. Iimaa T., Ikegami Y., Bual R., Shirakigawa N., Ijima H. Analysis of sulfated glycosaminoglycans in ECM scaffolds for tissue engineering applications: modified alcian blue method development and validation. *J Funct Biomater* 2019; 10(2), <https://doi.org/10.3390/jfb10020019>.

70. Neuman M.G., Cohen L.B., Nanau R.M. Hyaluronic acid as a non-invasive biomarker of liver fibrosis. *Clin Biochem* 2016; 49(3): 302–315, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2015.07.019>.

71. Gudowska M., Cylwik B., Chrostek L. The role of serum hyaluronic acid determination in the diagnosis of liver fibrosis. *Acta Biochim Pol* 2017; 64(3): 451–457, https://doi.org/10.18388/abp.2016_1443.

72. Garantziotis S., Brezina M., Castelnovo P., Drago L. The role of hyaluronan in the pathobiology and treatment of respiratory disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2016; 310(9): L785–L795, <https://doi.org/10.1152/ajplung.00168.2015>.

73. Toole B.P. Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue. *Nat Rev Cancer* 2004; 4(7): 528–539, <https://doi.org/10.1038/nrc1391>.

74. Jiang D., Liang J., Noble P.W. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev* 2011; 91(1): 221–264, <https://doi.org/10.1152/physrev.00052.2009>.

75. Petrigli G., Allegra L. Aerosolised hyaluronan acid prevents exercise-induced bronchoconstriction, suggesting novel hypotheses on the correction of matrix defects in asthma. *Pulm Pharmacol Ther* 2006; 19(3): 166–171, <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2005.03.002>.

76. Ghosh S., Hoselton S.A., Dorsam G.P., Schuh J.M. Hyaluronan fragments as mediators of inflammation in allergic pulmonary disease. *Immunobiology* 2015; 220(5): 575–588, <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2014.12.005>.

77. Manzanares D., Monzon M.E., Savani R.C., Salathe M. Apical oxidative hyaluronan degradation stimulates airway

- ciliary beating via RHAMM and RON. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37(2): 160–168, <https://doi.org/10.1165/rcmb.2006-0413oc>.
78. Leeming D., He Y., Veidal S., Nguyen Q., Larsen D., Koizumi M., Segovia-Silvestre T., Zhang C., Zheng Q., Sun S., Cao Y., Barkholt V., Hagglund P., Bay-Jensen A., Qvist P., Karsdal M. A novel marker for assessment of liver matrix remodeling: an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) detecting a MMP generated type I collagen neo-epitope (C1M). *Biomarkers* 2011; 16(7): 616–628, <https://doi.org/10.3109/1354750x.2011.620628>.
79. Segovia-Silvestre T., Reichenbach V., Fernandez-Varo G., Vassiliadis E., Barascuk N., Morales-Ruiz M., Karsdal M.A., Jimenez W. Circulating CO3-610, a degradation product of collagen III, closely reflects liver collagen and portal pressure in rats with fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2011; 4: 19, <https://doi.org/10.1186/1755-1536-4-19>.
80. Veidal S.S., Larsen D.V., Chen X., Sun S., Zheng Q., Bay-Jensen A.C., Leeming D.J., Nawrocki A., Larsen M.R., Schett G., Karsdal M.A. MMP mediated type V collagen degradation (C5M) is elevated in ankylosing spondylitis. *Clin Biochem* 2012; 45(7–8): 541–546, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.02.007>.
81. Bager C.L., Willumsen N., Leeming D.J., Smith V., Karsdal M.A., Dornan D., Bay-Jensen A.C. Collagen degradation products measured in serum can separate ovarian and breast cancer patients from healthy controls: a preliminary study. *Cancer Biomark* 2015; 15(6): 783–788, <https://doi.org/10.3233/cbm-150520>.
82. Leeming D.J., Sand J.M., Nielsen M.J., Genovese F., Martinez F.J., Hogaboam C.M., Han M.K., Klickstein L.B., Karsdal M.A. Serological investigation of the collagen degradation profile of patients with chronic obstructive pulmonary disease or idiopathic pulmonary fibrosis. *Biomark Insights* 2012; 7: 119–126, <https://doi.org/10.4137/bmi.s9415>.
83. Jenkins R.G., Simpson J.K., Saini G., Bentley J.H., Russell A.M., Braybrooke R., Molyneaux P.L., McKeever T.M., Wells A.U., Flynn A., Hubbard R.B., Leeming D.J., Marshall R.P., Karsdal M.A., Lukey P.T., Maher T.M. Longitudinal change in collagen degradation biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis: an analysis from the prospective, multicentre PROFILE study. *Lancet Respir Med* 2015; 3(6): 462–472, [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(15\)00048-x](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(15)00048-x).
84. Bay-Jensen A.C., Leeming D.J., Kleyer A., Veidal S.S., Schett G., Karsdal M.A. Ankylosing spondylitis is characterized by an increased turnover of several different metalloproteinase-derived collagen species: a cross-sectional study. *Rheumatol Int* 2012; 32(11): 3565–3572, <https://doi.org/10.1007/s00296-011-2237-8>.
85. Schumann D.M., Leeming D., Papakonstantinou E., Blasi F., Kostikas K., Boersma W., Louis R., Milenkovic B., Aerts J., Sand J.M.B., Wouters E.F.M., Rohde G., Prat C., Torres A., Welte T., Tamm M., Karsdal M., Stolz D. Collagen degradation and formation are elevated in exacerbated COPD compared with stable disease. *Chest* 2018; 154(4): 798–807, <https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.06.028>.
86. Lofvall H., Newbould H., Karsdal M.A., Dziegiel M.H., Richter J., Henriksen K., Thudium C.S. Osteoclasts degrade bone and cartilage knee joint compartments through different resorption processes. *Arthritis Res Ther* 2018; 20(1): 67, <https://doi.org/10.1186/s13075-018-1564-5>.
87. Bay-Jensen A.C., Liu Q., Byrjalsen I., Li Y., Wang J., Pedersen C., Leeming D.J., Dam E.B., Zheng Q., Qvist P., Karsdal M.A. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISAs) for metalloproteinase derived type II collagen neoepitope, CIIM — increased serum CIIM in subjects with severe radiographic osteoarthritis. *Clin Biochem* 2011; 44(5–6): 423–429, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.01.001>.
88. Yarmola E.G., Shah Y.Y., Kloefkorn H.E., Dobson J., Allen K.D. Comparing intra-articular CTXII levels assessed via magnetic capture or lavage in a rat knee osteoarthritis model. *Osteoarthritis Cartilage* 2017; 25(7): 1189–1194, <https://doi.org/10.1016/j.joca.2017.01.009>.
89. Gabusi E., Paoletta F., Manferdini C., Gambari L., Kon E., Filardo G., Mariani E., Lisignoli G. Cartilage and bone serum biomarkers as novel tools for monitoring knee osteochondritis dissecans treated with osteochondral scaffold. *Biomed Res Int* 2018; 2018: 9275102, <https://doi.org/10.1155/2018/9275102>.
90. Tomonaga A., Takahashi T., Tanaka Y.T., Tsuboi M., Ito K., Nagaoka I. Evaluation of the effect of salmon nasal proteoglycan on biomarkers for cartilage metabolism in individuals with knee joint discomfort: a randomized double-blind placebo-controlled clinical study. *Exp Ther Med* 2017; 14(1): 115–126, <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4454>.
91. Nemirovskiy O.V., Dufield D.R., Sunyer T., Aggarwal P., Welsch D.J., Mathews W.R. Discovery and development of a type II collagen neoepitope (TIINE) biomarker for matrix metalloproteinase activity: from in vitro to in vivo. *Anal Biochem* 2007; 361(1): 93–101, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.10.034>.
92. Sand J.M., Martinez G., Midjord A.K., Karsdal M.A., Leeming D.J., Lange P. Characterization of serological neo-epitope biomarkers reflecting collagen remodeling in clinically stable chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Biochem* 2016; 49(15): 1144–1151, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.09.003>.
93. Genovese F., Boor P., Papisotiriou M., Leeming D.J., Karsdal M.A., Floege J. Turnover of type III collagen reflects disease severity and is associated with progression and microinflammation in patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2016; 31(3): 472–479, <https://doi.org/10.1093/ndt/gfv301>.
94. Stribos E.G.D., Nielsen S.H., Brix S., Karsdal M.A., Seelen M.A., van Goor H., Bakker S.J.L., Olinga P., Mutsaers H.A.M., Genovese F. Non-invasive quantification of collagen turnover in renal transplant recipients. *PLoS One* 2017; 12(4): e0175898, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175898>.
95. Sand J.M., Larsen L., Hogaboam C., Martinez F., Han M., Rossel Larsen M., Nawrocki A., Zheng Q., Karsdal M.A., Leeming D.J. MMP mediated degradation of type IV collagen alpha 1 and alpha 3 chains reflects basement membrane remodeling in experimental and clinical fibrosis — validation of two novel biomarker assays. *PLoS One* 2013; 8(12): e84934, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084934>.
96. Skjot-Arkil H., Clausen R.E., Rasmussen L.M., Wang W., Wang Y., Zheng Q., Mickley H., Saaby L., Diederichsen A.C., Lambrechtsen J., Martinez F.J., Hogaboam C.M., Han M., Larsen M.R., Nawrocki A., Vainer B., Krstrup D., Bjorling-Poulsen M., Karsdal M.A., Leeming D.J. Acute myocardial infarction and pulmonary diseases result in two different degradation profiles of elastin as quantified by two novel ELISAs. *PLoS One* 2013; 8(6): e60936, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060936>.
97. Genovese F., Karsdal M.A., Leeming D.J., Scholze A.,

- Tepel M. Association of versican turnover with all-cause mortality in patients on haemodialysis. *PLoS One* 2014; 9(10): e111134, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111134>.
98. Daghestani H.N., Jordan J.M., Renner J.B., Doherty M., Wilson A.G., Kraus V.B. Serum N-propeptide of collagen IIA (PIIANP) as a marker of radiographic osteoarthritis burden. *PLoS One* 2017; 12(12): e0190251, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190251>.
99. Leeming D.J., Karsdal M.A., Byrjalsen I., Bendtsen F., Trebicka J., Nielsen M.J., Christiansen C., Moller S., Krag A. Novel serological neo-epitope markers of extracellular matrix proteins for the detection of portal hypertension. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38(9): 1086–1096, <https://doi.org/10.1111/apt.12484>.
100. Bay-Jensen A.C., Hoegh-Madsen S., Dam E., Henriksen K., Sondergaard B.C., Pastoureau P., Qvist P., Karsdal M.A. Which elements are involved in reversible and irreversible cartilage degradation in osteoarthritis? *Rheumatol Int* 2010; 30(4): 435–442, <https://doi.org/10.1007/s00296-009-1183-1>.
101. Lees S., Golub S.B., Last K., Zeng W., Jackson D.C., Sutton P., Fosang A.J. Bioactivity in an aggrecan 32-mer fragment is mediated via toll-like receptor 2. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67(5): 1240–1249, <https://doi.org/10.1002/art.39063>.
102. Hendrix A.Y., Kheradmand F. The role of matrix metalloproteinases in development, repair, and destruction of the lungs. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2017; 148: 1–29, <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.04.004>.
103. Hogg J.C., Timens W. The pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Annu Rev Pathol* 2009; 4: 435–459, <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092145>.
104. Brusselle G.G., Joos G.F., Bracke K.R. New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 2011; 378(9795): 1015–1026, [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(11\)60988-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(11)60988-4).
105. Kelly E.A., Jarjour N.N. Role of matrix metalloproteinases in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9(1): 28–33, <https://doi.org/10.1097/00063198-200301000-00005>.
106. Zhou X., Wei T., Cox C.W., Jiang Y., Roche W.R., Walls A.F. Mast cell chymase impairs bronchial epithelium integrity by degrading cell junction molecules of epithelial cells. *Allergy* 2018, <https://doi.org/10.1111/all.13666>.
107. Navratilova Z., Kolek V., Petrek M. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2016; 64(3): 177–193, <https://doi.org/10.1007/s00005-015-0375-5>.
108. Mulyadi, Sunnati, Azhary M., Yunus F., Nurwidya F. The correlation of age and body mass index with the level of both protease MMP3 and anti-protease TIMP-1 among Indonesian patients with chronic obstructive pulmonary disease: a preliminary findings. *BMC Res Notes* 2018; 11(1): 551, <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3669-y>.
109. Naik S.P., Mahesh P.A., Jayaraj B.S., Madhunapantula S.V., Jahromi S.R., Yadav M.K. Evaluation of inflammatory markers interleukin-6 (IL-6) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in asthma. *J Asthma* 2017; 54(6): 584–593, <https://doi.org/10.1080/02770903.2016.1244828>.
110. Ingram J.L., Slade D., Church T.D., Francisco D., Heck K., Sigmon R.W., Ghio M., Murillo A., Firszt R., Lugogo N.L., Que L., Sunday M.E., Kraft M. Role of matrix metalloproteinases-1 and -2 in interleukin-13-suppressed elastin in airway fibroblasts in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2016; 54(1): 41–50, <https://doi.org/10.1165/rcmb.2014-0290oc>.
111. Pham D.N., Chu H.W., Martin R.J., Kraft M. Increased matrix metalloproteinase-9 with elastolysis in nocturnal asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 90(1): 72–78, [https://doi.org/10.1016/s1081-1206\(10\)63617-4](https://doi.org/10.1016/s1081-1206(10)63617-4).
112. Tiotiu A. Biomarkers in asthma: state of the art. *Asthma Res Pract* 2018; 4: 10, <https://doi.org/10.1186/s40733-018-0047-4>.
113. Asano Y., Ihn H., Jinnin M., Tamaki Z., Tamaki K., Sato S. Serum levels of matrix metalloproteinase-13 in patients with eosinophilic fasciitis. *J Dermatol* 2014; 41(8): 746–748, <https://doi.org/10.1111/1346-8138.12563>.
114. Naveed S.U., Clements D., Jackson D.J., Philp C., Billington C.K., Soomro I., Reynolds C., Harrison T.W., Johnston S.L., Shaw D.E., Johnson S.R. Matrix metalloproteinase-1 activation contributes to airway smooth muscle growth and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 2017; 195(8): 1000–1009, <https://doi.org/10.1164/rccm.201604-0822oc>.
115. Munshi H.G., Stack M.S. Analysis of matrix degradation. *Methods Cell Biol* 2002; 69: 195–205, [https://doi.org/10.1016/s0091-679x\(02\)69013-2](https://doi.org/10.1016/s0091-679x(02)69013-2).
116. Bencsik P., Bartekova M., Gorbe A., Kiss K., Palocz J., Radosinska J., Szucs G., Ferdinandy P. MMP activity detection in zymograms. *Methods Mol Biol* 2017; 1626: 53–70, https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7111-4_6.
117. Richards C.D. Innate immune cytokines, fibroblast phenotypes, and regulation of extracellular matrix in lung. *J Interferon Cytokine Res* 2017; 37(2): 52–61, <https://doi.org/10.1089/jir.2016.0112>.
118. Tsuda T. Extracellular interactions between fibulins and transforming growth factor (TGF)-beta in physiological and pathological conditions. *Int J Mol Sci* 2018; 19(9): 2787, <https://doi.org/10.3390/ijms19092787>.
119. Schönherr E., Hausser H.J. Extracellular matrix and cytokines: a functional unit. *Dev Immunol* 2000; 7(2–4): 89–101, <https://doi.org/10.1155/2000/31748>.
120. Hoshino M., Ohtawa J., Akitsu K. Effect of treatment with inhaled corticosteroid on serum periostin levels in asthma. *Respirology* 2016; 21(2): 297–303, <https://doi.org/10.1111/resp.12687>.
121. Caminati M., Gatti D., Dama A., Lorenzetti L., Senna G. Serum periostin during omalizumab therapy in asthma: a tool for patient selection and treatment evaluation. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2017; 119(5): 460–462, <https://doi.org/10.1016/j.anai.2017.08.004>.
122. Medrek S.K., Parulekar A.D., Hanania N.A. Predictive biomarkers for asthma therapy. *Curr Allergy Asthma Rep* 2017; 17(10): 69, <https://doi.org/10.1007/s11882-017-0739-5>.
123. Solanki B., Prakash A., Rehan H.S., Gupta L.K. Effect of inhaled corticosteroids on serum periostin levels in adult patients with mild-moderate asthma. *Allergy Asthma Proc* 2019; 40(1): 32–34, <https://doi.org/10.2500/aap.2019.40.4179>.
124. Grande J.P. Role of transforming growth factor-beta in tissue injury and repair. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 214(1): 27–40, <https://doi.org/10.3181/00379727-214-44066>.
125. Liu K., Qian Y.L., Fan Z.H. Review on transforming growth factor beta and repair of tissue injury. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 1999; 13(5): 283–286.
126. Wang F., Wei Z.L., Sun X.R., Zhang Q., Zhang C.X., Jiang W.X., Yan X., Liu J.N., Yuan X. Apoptosis inducing factor is involved in stretch-induced apoptosis of myoblast via a caspase-9 independent pathway. *J Cell Biochem* 2017; 118(4): 829–838, <https://doi.org/10.1002/jcb.25759>.

127. Johnston E.F., Gillis T.E. Transforming growth factor beta-1 (TGF-beta1) stimulates collagen synthesis in cultured rainbow trout cardiac fibroblasts. *J Exp Biol* 2017; 220(Pt 14): 2645–2653, <https://doi.org/10.1242/jeb.160093>.
128. Takeda N., Hara H., Fujiwara T., Kanaya T., Maemura S., Komuro I. TGF-beta Signaling-related genes and thoracic aortic aneurysms and dissections. *Int J Mol Sci* 2018; 19(7): 2125, <https://doi.org/10.3390/ijms19072125>.
129. Low E.L., Baker A.H., Bradshaw A.C. TGFbeta, smooth muscle cells and coronary artery disease: a review. *Cell Signal* 2019; 53: 90–101, <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.09.004>.
130. Lin C.J., Lin C.Y., Stitzel N.O. Genetics of the extracellular matrix in aortic aneurysmal diseases. *Matrix Biol* 2018; 71–72: 128–143, <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.04.005>.
131. Theocharis A.D., Manou D., Karamanos N.K. The extracellular matrix as a multitasking player in disease. *FEBS J* 2019, <https://doi.org/10.1111/febs.14818>.
132. Keene D.R., Tufa S.F. Ultrastructural analysis of the extracellular matrix. *Methods Cell Biol* 2018; 143: 1–39, <https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2017.08.002>.
133. Shih C.C., Oakley D.M., Joens M.S., Roth R.A., Fitzpatrick J.A.J. Nonlinear optical imaging of extracellular matrix proteins. *Methods Cell Biol* 2018; 143: 57–78, <https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2017.08.004>.
134. Leonard A.K., Loughran E.A., Klymenko Y., Liu Y., Kim O., Asem M., McAbee K., Ravosa M.J., Stack M.S. Methods for the visualization and analysis of extracellular matrix protein structure and degradation. *Methods Cell Biol* 2018; 143: 79–95, <https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2017.08.005>.
135. Rittie L. Method for picosirius red-polarization detection of collagen fibers in tissue sections. *Methods Mol Biol* 2017; 1627: 395–407, https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7113-8_26.
136. Streltsova O.S., Maslennikova A.V., Yunusova K.E., Dudenkova V.V., Kiseleva E.B., Kochueva M.V., Tararova E.A., Malikov D.K., Vorobieva A.S., Krupin V.N. Nonlinear microscopy in studying extracellular matrix state of the urinary bladder in severe complications after radiation therapy of female pelvic tumors. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(2): 19–28, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.2.02>.
137. Golaraei A., Mirsanaye K., Ro Y., Krouglov S., Akens M.K., Wilson B.C., Barzda V. Collagen chirality and three-dimensional orientation studied with polarimetric second-harmonic generation microscopy. *J Biophotonics* 2019; 12(1): e201800241, <https://doi.org/10.1002/jbio.201800241>.
138. Thomas G., van Voskuilen J., Gerritsen H.C., Sterenberg H.J. Advances and challenges in label-free nonlinear optical imaging using two-photon excitation fluorescence and second harmonic generation for cancer research. *J Photochem Photobiol B* 2014; 141: 128–138, <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.08.025>.
139. Gorska K., Korczynski P., Mierzejewski M., Kosciuch J., Zukowska M., Maskey-Warzechowska M., Krenke R. Comparison of endobronchial ultrasound and high resolution computed tomography as tools for airway wall imaging in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2016; 117: 131–138, <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2016.06.011>.
140. Hartley R.A., Barker B.L., Newby C., Pakkal M., Baldi S., Kajekar R., Kay R., Laurencin M., Marshall R.P., Sousa A.R., Parmar H., Siddiqui S., Gupta S., Brightling C.E. Relationship between lung function and quantitative computed tomographic parameters of airway remodeling, air trapping, and emphysema in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease: a single-center study. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137(5): 1413–1422.e1412, <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.02.001>.
141. Ding M., Chen Y., Guan W.J., Zhong C.H., Jiang M., Luo W.Z., Chen X.B., Tang C.L., Tang Y., Jian Q.M., Wang W., Li S.Y., Zhong N.S. Measuring airway remodeling in patients with different copd staging using endobronchial optical coherence tomography. *Chest* 2016; 150(6): 1281–1290, <https://doi.org/10.1016/j.chest.2016.07.033>.
142. d'Hooghe J.N.S., Goorsenberg A.W.M., de Bruin D.M., Roelofs J., Annema J.T., Bonta P.I. Optical coherence tomography for identification and quantification of human airway wall layers. *PLoS One* 2017; 12(10): e0184145, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184145>.
143. Chen Y., Ding M., Guan W.J., Wang W., Luo W.Z., Zhong C.H., Jiang M., Jiang J.H., Gu Y.Y., Li S.Y., Zhong N.S. Validation of human small airway measurements using endobronchial optical coherence tomography. *Respir Med* 2015; 109(11): 1446–1453, <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2015.09.006>.
144. Goorsenberg A.W.M., d'Hooghe J.N.S., de Bruin D.M., van den Berk I.A.H., Annema J.T., Bonta P.I. Bronchial thermoplasty-induced acute airway effects assessed with optical coherence tomography in severe asthma. *Respiration* 2018; 96(6): 564–570, <https://doi.org/10.1159/000491676>.
145. Stoilov I., Starcher B.C., Mecham R.P., Broekelmann T.J. Measurement of elastin, collagen, and total protein levels in tissues. *Methods Cell Biol* 2018; 143: 133–146, <https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2017.08.008>.
146. Srivastava A.K., Khare P., Nagar H.K., Raghuwanshi N., Srivastava R. Hydroxyproline: a potential biochemical marker and its role in the pathogenesis of different diseases. *Curr Protein Pept Sci* 2016; 17(6): 596–602, <https://doi.org/10.2174/1389203717666151201192247>.
147. Trackman P.C., Bais M.V. Measurement of lysyl oxidase activity from small tissue samples and cell cultures. *Methods Cell Biol* 2018; 143: 147–156, <https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2017.08.009>.
148. Tomasini-Johansson B.R., Mosher D.F. Microtiter assays for quantitation of assembly of plasma and cellular fibronectin. *Methods Cell Biol* 2018; 143: 157–170, <https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2017.10.001>.
149. Midura R.J., Cali V., Lauer M.E., Calabro A., Hascall V.C. Quantification of hyaluronan (HA) using a simplified fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis (FACE) procedure. *Methods Cell Biol* 2018; 143: 297–316, <https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2017.08.017>.
150. Witz C.A., Montoya-Rodriguez I.A., Cho S., Centonze V.E., Bonewald L.F., Schenken R.S. Composition of the extracellular matrix of the peritoneum. *J Soc Gynecol Investig* 2001; 8(5): 299–304, <https://doi.org/10.1177/107155760100800508>.
151. Lee E.R., Lamplugh L., Kluczyk B., Leblond C.P., Mort J.S. Neoepitopes reveal the features of type II collagen cleavage and the identity of a collagenase involved in the transformation of the epiphyses anlagen in development. *Dev Dyn* 2009; 238(6): 1547–1563, <https://doi.org/10.1002/dvdy.21960>.