

## ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ БЕЛКОВ, СОПРЯЖЕННЫХ С ФИБРОПЛАСТИЧЕСКИМИ ПРОЦЕССАМИ, В ЛЕГКИХ МЫШЕЙ ПРИ РАЗВИТИИ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Петр Михайлович КОЖИН<sup>1</sup>, Антон Владимирович ЧЕЧУШКОВ<sup>1</sup>,  
Наталья Сергеевна ЗАЙЦЕВА<sup>1</sup>, Марина Валерьевна ХРАПОВА<sup>1</sup>,  
Лилия Александровна ЧЕРДАНЦЕВА<sup>1,2</sup>, Елена Брониславовна МЕНЬЩИКОВА<sup>1</sup>,  
Александр Васильевич ТРОИЦКИЙ<sup>1</sup>, Вячеслав Алексеевич ШКУРУПИЙ<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *НИИ экспериментальной и клинической медицины ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

<sup>2</sup> *Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17*

<sup>3</sup> *Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52*

В настоящем исследовании проведен анализ экспрессии генов белков, участвующих во внутриклеточных сигнальных путях, сопряженных с профибротическим ответом, активацией эпителиально-мезенхимального и эндотелиально-мезенхимального переходов, при моделировании туберкулезного гранулематоза и фармацевтических воздействий. **Материал и методы.** Исследование проводили на мышах-самцах линии BALB/c двухмесячного возраста с массой тела 18–22 г. Генерализованный туберкулезный гранулематоз моделировали однократным внутривенным (ретроорбитально) введением 0,5 мг вакцины БЦЖ в 0,2 мл изотонического водного раствора NaCl (ФР), через 4 мес. часть мышей начинала получать препараты лечения, через 2 мес. животных выводили из эксперимента путем декапитации и выделяли легкие (через 6 мес. после введения вакцины БЦЖ). Мыши были разделены на шесть групп, по пять особей в каждой: интактные, которым внутривенно ретроорбитально вводили 0,2 мл ФР; инфицированные БЦЖ и получавшие внутрибрюшинные инъекции ФР; инфицированные БЦЖ и получавшие внутрибрюшинные инъекции раствора гидразид изоникотиновой кислоты (ГИНК); инфицированные БЦЖ и получавшие внутрибрюшинные инъекции раствора декстразида (конъюгат окисленного декстрана 40 кДа и ГИНК); инфицированные БЦЖ и получавшие внутрибрюшинно либо ингаляционно раствор молекулярно-наносомальных фармацевтических композиций окисленного декстрана (МНФК). По окончании эксперимента в ткани легкого мышей методом ПЦР в реальном времени определяли экспрессию мРНК матриксной металлопротеиназы-9, проколлагена типа III, TGF- $\beta$  и транскрипционных факторов ZEB1 и Snai1. **Результаты.** Обнаружено, что моделирование генерализованного туберкулезного гранулематоза сопровождается индукцией эпителиально-мезенхимального перехода и активацией профибротических процессов, что через 6 мес. проявлялось в повышении экспрессии цепи  $\alpha 1$  коллагена III типа и TGF- $\beta$ . Назначение животным в течение 2 мес. традиционных (ГИНК) и оригинальных (декстразид, МНФК) препаратов с противотуберкулезной активностью обладает ингибирующей активностью разной степени выраженности в отношении различных маркеров данных процессов.

**Ключевые слова:** туберкулезный гранулематоз, фиброз, окисленный декстран, декстразид, матриксная металлопротеиназа-9, проколлаген типа III, TGF- $\beta$ , ZEB1, Snai1.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

**Благодарности.** Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» НИИ экспериментальной и клинической медицины ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины.

**Автор для переписки:** Меньщикова Е.Б., e-mail: lemen@centercem.ru

**Для цитирования:** Кожин П.М., Чечушков А.В., Зайцева Н.С., Храпова М.В., Черданцева Л.А., Меньщикова Е.Б., Троицкий А.В., Шкурупий В.А. Экспрессия генов белков, сопряженных с фибропластическими процессами, в легких мышей при развитии туберкулезного воспаления. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019; 39 (4): 22–29. doi: 10.15372/SSMJ20190403.

## EXPRESSION OF PROTEIN GENES PARTICIPATING IN FIBROPLASTIC PROCESSES IN MICE LUNG DURING THE DEVELOPMENT OF TUBERCULOUS INFLAMMATION

Peter Mikhaylovich KOZHIN<sup>1</sup>, Anton Vladimirovich CHECHUSHKOV<sup>1</sup>,  
Natal'ya Sergeevna ZAYTSEVA<sup>1</sup>, Marina Valer'yevna KHRAPOVA,  
Liliya Aleksandrovna CHERDANTSEVA<sup>1,2</sup>, Elena Bronislavovna MENSCHHIKOVA<sup>1</sup>,  
Aleksandr Vasil'yevich TROITSKY<sup>1</sup>, Vyacheslav Alekseevich SHKURUPY<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Research Institute for Experimental and Clinical Medicine of Federal Research Center  
for Basic and Translational Medicine  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

<sup>2</sup> *Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan  
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17*

<sup>3</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

---

The study analyzes the expression of protein genes involved in intracellular signaling pathways associated with a profibrotic response, activation of epithelial-mesenchymal and endothelial-mesenchymal transitions, in modeling tuberculous granulomatosis and pharmaceutical effects. **Material and methods.** The study was performed on male BALB/c mice aged two months and weighing 18–22 g. Generalized tuberculous granulomatosis was simulated by a single intravenous (retro-orbital) injection of 0.5 mg BCG vaccine in 0.2 ml of isotonic aqueous NaCl solution (SS), after 4 months a part of mice started to receive treatment drugs, after 2 months the animals were sacrificed by decapitation (6 months after BCG vaccine administration) and their lung tissues were collected. Mice were divided into 6 groups, 5 males in each: intact, which were intravenously into the retro-orbital sinus injected with 0.2 ml SS (C); infected with BCG and receiving SS intraperitoneal injections (BS); infected with BCG and received intraperitoneal injections of isonicotinic acid hydrazide solution (INAH) (BI); infected with BCG and received intraperitoneal injections of dextrazide solution (conjugate of 40 kDa oxidized dextran and INAH) (BD); infected with BCG and received intraperitoneal or inhalation injections of solution of molecular-nanosomal pharmaceutical compositions of oxidized dextran (MNPC) (BMP and BMH, respectively). Finally, the expression of mRNA of matrix metalloproteinase 9, type III procollagen, TGF- $\beta$ , and transcription factors ZEB1 and Snail was determined by real-time PCR in mice lung tissue. **Results.** The modeling of generalized tuberculous granulomatosis was found to be accompanied by the induction of epithelial-mesenchymal transition and the activation of profibrotic processes, which after 6 months was manifested in increase of the type III collagen  $\alpha$ 1-chain and TGF- $\beta$  mRNA expression. Administration of traditional (INAH) and original (dextrazide, MNPC) preparations with anti-tuberculosis activity within two months has inhibitory activity of varying severity in relation to various markers of these processes.

---

**Key words:** tuberculous granulomatosis, fibrosis, oxidized dextran, dextrazide, matrix metalloproteinase 9, type III procollagen, TGF- $\beta$ , ZEB1, Snail.

**Conflict of interests.** Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

**Acknowledgments.** This work was performed using the equipment of centre of collective usage «Modern Optical Systems» of Research Institute for Experimental and Clinical Medicine of Federal Research Center for Basic and Translational Medicine

**Correspondence author:** Menshchikova E.B., e-mail: lemen@centercem.ru

**Citation:** Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Zaytseva N.S., Khrapova M.V., Cherdantseva L.A., Menshchikova E.B., Troitsky A.V., Shkurupy V.A. Expression of protein genes participating in fibroplastic processes in mice lung during the development of tuberculous inflammation. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019; 39 (4): 22–29. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190403.

Фиброзирование является частым прогрессирующим ответом на хроническое воспаление. Накопление компонентов внеклеточного матрикса, продуцируемого активированными интерстициальными миофибробластами, в сочетании с нарушением его реорганизации приводит к нарушению нормальной архитектуры ткани и, тем самым, функции органа [10]. Белки семейства матриксной металлопротеиназы (ММП) участвуют в распаде внеклеточного матрикса в нормальных физиологических процессах, таких как эмбриональное развитие, размножение, ангиогенез, развитие костей, заживление ран, миграция клеток, обучение и память, а также в патологических процессах, таких как артрит, внутримозговое кровоизлияние, метастазы [9, 13]. К числу важных ферментов, участвующих в ремоделировании структур внеклеточного матрикса, относится ММП-9; данный фермент ассоциирован с многочисленными патологическими процессами, включая воспалительные, онкологические, иммунологические и сердечно-сосудистые заболевания [2]. Основу соединительной ткани организма составляют коллагены – фибриллярные белки, обеспечивающие ее прочность и эластичность; 95 % всего коллагена в дерме человека составляют коллагены I и III типов, коллаген III типа также содержится в других растяжимых соединительных тканях (легкие, сосудистая система), часто в сочетании с коллагеном типа I [15].

В процессе воспаления мононуклеары и макрофаги инфильтрируют область воспаления и секретируют различные цитокины, необходимые для клеточной миграции, активации, дифференцировки. Фибробласты активируются и дифференцируются в миофибробласты и начинают синтезировать белки внеклеточного матрикса (коллаген, фибронектин, эластин, протеогликаны) для восстановления поврежденного матрикса и поддержания гомеостаза ткани. В физиологических условиях этот процесс достигается за счет баланса между уровнем синтеза белков внеклеточного матрикса и уровнем их разрушения за счет протеолитических ферментов.

Существует много сигнальных путей, приводящих к активации фибробластов (опосредованных TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, EGF). К основным индукторам активации фибробластов относится TGF- $\beta$ . Он принадлежит к Th1-цитокинам и синтезируется многими клетками, включая макрофаги, лимфоциты и фибробласты [3, 11]. TGF- $\beta$  осуществляет передачу сигнала от поверхности клетки к ядру за счет активации Smad-сигнального пути. Цитокин связывается с конститутивно активным TGF- $\beta$ -рецептором II, который стимулирует TGF- $\beta$ -рецептор I и образует с ним

активный комплекс, фосфорилирующий цитоплазматические сигнальные молекулы Smad2 и Smad3. Активированные Smad2 и Smad3 соединяются с Smad4, и образовавшийся комплекс транслоцируется в ядро, где взаимодействует со Smad-связывающим элементом, что в конечном итоге приводит к транскрипции целевых генов и синтезу коллагена. TGF- $\beta$  также активирует ингибирующую сигнальную молекулу Smad7, которая взаимодействует с рецептором TGF- $\beta$  и блокирует фосфорилирование Smad2/3, контролируя таким образом магнитуду сигнального ответа на TGF- $\beta$  за счет образования петли негативной обратной связи [3, 11]. Существуют альтернативные пути передачи сигнала, например, MAP-киназный и PI3/Akt/PKB-киназный [12]. Образование большого количества коллагена может быть также связано с уменьшением количества репрессоров TGF- $\beta$ -связанных сигнальных путей: Smad7, PPAR- $\gamma$ , p53, Fli-1. Кроме того, цитокины TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  снижают TGF- $\beta$ -опосредованный синтез коллагена за счет активации супрессоров (NF-kB, STAT-1, AP-1).

Фибробласты являются основным источником белков внеклеточного матрикса. Изначально предполагалось, что зрелые фибробласты образуются из эмбриональных мезенхимальных клеток, а пролиферирующие резидентные фибробласты и циркулирующие фиброциты являются основным источником миофибробластов, участвующих в процессе фиброгенеза. Однако показано, что зрелые фибробласты также образуются из эпителиальных (эпителиально-мезенхимальный переход, ЭМП) и эндотелиальных клеток (эндотелиально-мезенхимальный переход) [3, 14]. Эпителиальные клетки приобретают фибробластоподобную морфологию и начинают экспрессировать маркеры фибробластов/миофибробластов, такие как FSP-1,  $\alpha$ -SMA, N-кадгерин, виментин, теряя при этом эпителиальные маркеры – E-кадгерин, окклюдин, десмоплакин. ЭМП характеризуется трансформацией эпителиальных и эндотелиальных клеток в мигрирующие и инвазивные мезенхимальные клетки. При этом происходит разъединение плотных и адгерентных контактов, растворение десмосом, потеря апикально-базальной ориентации клеток, реорганизация актинового цитоскелета и инициация миграции клеток.

Гиперактивация ЭМП играет важную роль в развитии и прогрессии фиброза в различных органах. Во время такого перехода происходит утрата эпителиальных и эндотелиальных маркеров и появление мезенхимальных маркеров ( $\alpha$ -SMA, коллаген). Основным индуктором ЭМП являются белки семейства TGF- $\beta$ , активирующие транскрипционные факторы семейства SMAD

[6], которые ингибируют транскрипцию эпителиальных генов и активируют гены транскрипционных факторов, участвующих в ЭМП, – Snail, ZEB и bHLH. Клетки первичного альвеолярного эпителия под воздействием TGF- $\beta$  на протяжении 3–6 дней подвергаются трансформированию в фибробласты и миофибробласты [16]. Молекулярное репрограммирование, происходящее при ЭМП, управляется различными транскрипционными факторами (EMT-activating transcription factors): Snail, Twist, ZEB1 [5, 14]. Эти факторы работают как молекулярные переключатели, отвечающие за известные сигнальные пути, и регулируют ЭМП [3, 8]. Одновременно TGF- $\beta$  активирует SMAD-независимые сигнальные каскады, которые необходимы для потери межклеточных контактов, а также активации пролиферации и миграции клеток: Rho ГТФазы, киназы ERK/MAP, PAR6 и PI<sub>3</sub> [7].

Интересно, что фиброз, опосредуемый различными этиологическими факторами, ассоциирован с активацией Th17-клеток, которая происходит при воздействии TGF- $\beta$  и IL-6 на наивные Th-клетки [4]. Данные клетки рассматриваются как одна из причин фибротических осложнений, их активность ассоциирована с тяжестью поражения легких [17].

В настоящем исследовании проведен анализ экспрессии генов белков, участвующих во внутриклеточных сигнальных путях, сопряженных с профибротическим ответом, активацией эпителиально-мезенхимального и эндотелиально-мезенхимального переходов, при моделировании туберкулезного гранулематоза и фармацевтических воздействиях.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на мышах-самцах линии BALB/c двухмесячного возраста массой тела 18–22 г, полученных из Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Кольцово). Генерализованный туберкулезный гранулематоз моделировали однократным внутривенным (ретроорбитально) введением 0,5 мг вакцины БЦЖ в 0,2 мл изотонического водного раствора NaCl (ФР) [1], через 4 мес. часть мышей начинала получать препараты лечения внутрибрюшинно либо ингаляционно по описанной ниже схеме, выведение из эксперимента путем декапитации – через 2 мес. после начала назначения препаратов (через 6 мес. после введения вакцины БЦЖ). Животные были разделены на шесть групп, по пять особей в каждой. Группа «К» – интактные мыши, которым внутривенно ретроорбитально вводили 0,2 мл ФР. Группа

«БФ» – мыши, инфицированные вакциной БЦЖ и получавшие внутрибрюшинные инъекции ФР. Группа «БГ» – мыши, инфицированные вакциной БЦЖ и получавшие 2 раза в неделю внутрибрюшинные инъекции раствора гидразида изоникотиновой кислоты (ГИНК) (14 мг/кг массы тела, 50 мкл). Группа «БД» – мыши, инфицированные вакциной БЦЖ и получавшие 2 раза в неделю внутрибрюшинные инъекции декстразида (конъюгат окисленного декстрана с молекулярной массой 40 кДа и ГИНК, 2%-й раствор, 50 мкл). Группа «БМВ» – мыши, инфицированные вакциной БЦЖ и получавшие 2 раза в неделю внутрибрюшинные инъекции раствора молекулярно-наносомальных фармацевтических композиций окисленного декстрана (МНФК: смесь 2%-го декстразида и 1%-го фосфатидилхолина; 50 мкл). Группа «БМИ» – мыши, инфицированные вакциной БЦЖ и получавшие 2 раза в неделю ингаляционно раствор МНФК (животных помещали на 5 мин в заправочную камеру с распыленным раствором МНФК из расчета 50 мкл на мышь).

РНК из ткани легкого выделяли с использованием TRIzol Reagent согласно инструкции. Для получения кДНК проводили обратную транскрипцию с использованием набора реагентов iScript cDNA Synthesis Kit согласно инструкции. Изменения экспрессии мРНК генов исследовали методом TaqMan ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе CFX96 («Bio-Rad Laboratories», США). Реакцию амплификации выполняли в следующих условиях: реакционная смесь ПЦР объемом 20 мкл содержала буфер для ПЦР, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP's, 1,25 е.а. Taq-полимеразы. Амплификацию проводили согласно следующей программе: 3 мин при 95 °С начальной денатурации, далее 40 циклов: 10 с при 95 °С для денатурации, 20 с при 60 °С для гибридизации праймеров, съем флуоресцентного сигнала, 20 с при 72 °С для элонгации. Уровень экспрессии мРНК генов нормировали относительно референсного гена *Gapdh*. Уровень экспрессии рассчитывали согласно методу Pfaffl. Подобранные с помощью программы PrimerQuest Tool (Integrated DNA Technologies, США) пары праймеров (прямых и обратных) и TaqMan-зондов приведены в таблице.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение ( $M$ ), ошибку среднего арифметического значения ( $m$ ), и представляли в виде  $M \pm m$ . Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при  $p < 0,05$ . Связь между различными признаками в исследуемой выборке определяли с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Пирсона ( $r$ ).

Перечень генов, подобранных пар прямых (F) и обратных (R) праймеров, TaqMan-зондов (Pr)

Table

List of genes, forward (F), reverse (R) primer sequences and TaqMan probes (Pr)

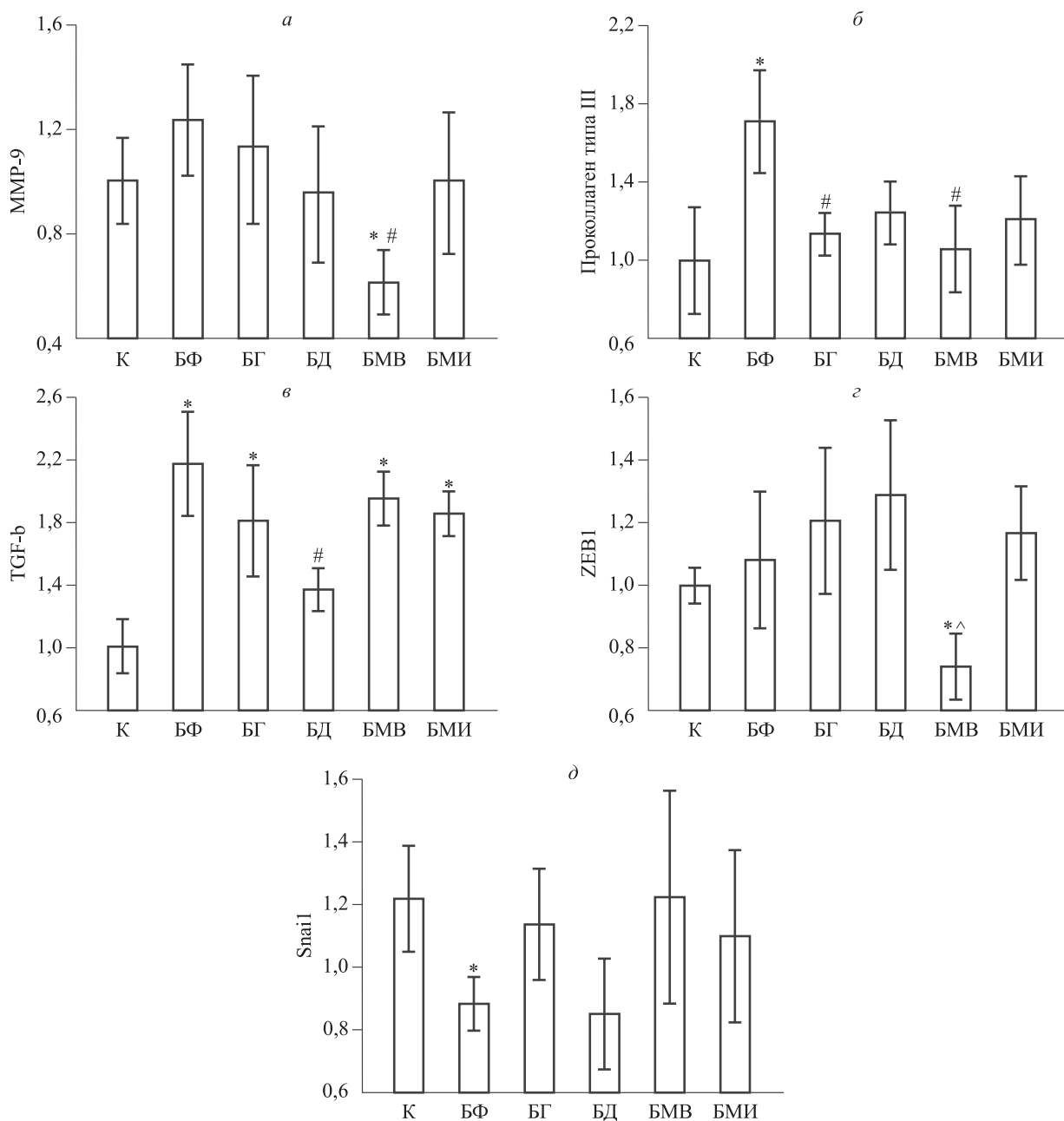
Ген	GenBank ассоциированный номер	Последовательность праймера
<i>Gapdh</i>	NM_001289726.1 NM_008084.3	F: 5'-AACTTTGGCATTGTGGAAGGGCTC-3' R: 5'-ACCAGTGGATGCAGGGATGATGTT-3' Pr: R6G-5'-ATGACCACAGTCCATGCCATCACTGCCA-3'-Q
<i>Mmp9</i>	NM_013599.4	F: 5'-CTCCAACCTCACGGACAC-3' R: 5'-GACTGCTTCTCTCCCATCATC-3' Pr: Fam-5'-AGCTGGCAGAGGCATACTTGTACC-3'-BHQ1
<i>Col3a1</i>	NM_009930.2	F: 5'-CCCTTCTTCATCCCCTCTTATT-3' R: 5'-GATCCTGAGTCACAGACACATATT-3' Pr: Fam-5'-TCATCTACGTTGGACTGCTGTGCC-3'-BHQ1
<i>Tgfb1</i>	NM_011577.2	F: 5'-CCTGAGTGGCTGTCTTTTGA-3' R: 5'-CGTGGAGTTTGTATCTTTGCTG-3' Pr: Fam-5'-CCCTGTATTCCGTCCTTGGTTCA-3'-BHQ1
<i>Zeb1</i>	NM_011546.3	F: 5'-AGACACCGCCGTCATTTATC-3' R: 5'-CAGGTGAGCAACTGGGAAA-3' Pr: Fam-5'-ACACCAGAAGCCAGCAGTCATGAT-3'-BHQ1
<i>Snai1</i>	NM_011427.3	F: 5'-CTGCACGACCTGTGGAAAG-3' R: 5'-GTTGGAGCGGTCAGCAA-3' Pr: Fam-5'-ACCCACACTGGTGAGAAGCCATTC-3'-BHQ1

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке представлены результаты анализа экспрессии мРНК MMP-9 (рисунок, а), проколлагена типа III (рисунок, б), TGF- $\beta$  (рисунок, в) и транскрипционных факторов ZEB1 (рисунок, з) и Snai1 (рисунок, д). Развитие генерализованного туберкулезного гранулематоза закономерно сопровождалось индукцией ЭМП и активацией профибротических процессов, что проявлялось в повышении экспрессии цепи  $\alpha 1$  коллагена III типа и TGF- $\beta$  (см. рисунок, б, в). В легких мышей через 6 мес. после инъекции вакцины БЦЖ экспрессия гена участвующего в индукции ЭМП транскрипционного фактора ZEB1 не изменялась (см. рисунок, з), а содержание мРНК фактора Snai1 даже уменьшалось (см. рисунок, д). Экспрессия гена TGF- $\beta$  уменьшалась только в результате введения декстразида. Однако несмотря на снижение экспрессии гена основного индуктора активации фибробластов, TGF- $\beta$  [3, 11], декстразид не разрывал биохимического каскада ЭМП, не оказывая статистически значимого влияния ни на экспрессию исследованных генов транскрипционных факторов, участвующих в ЭМП, ни на экспрессию генов MMP-9 и проколлагена III.

Содержание мРНК MMP-9 было одинаковым практически во всех группах, за исключением инфицированных БЦЖ животных, получавших

МНФК внутрибрюшинно. Данный факт можно рассматривать как потенциально позитивный терапевтический эффект, поскольку известно, что *Mycobacterium tuberculosis* индуцирует гиперпродукцию клетками хозяина протеаз, главным образом MMP, что приводит к образованию полостей и формированию антибиотикорезистентности [13]. Под действием тестируемых соединений содержание мРНК проколлагена III снижалось (в случае ГИНК и МНФК внутрибрюшинно – статистически значимо), возвращаясь к уровню, характерному для животных контрольной группы, что косвенно свидетельствует об угнетении дифференцировки фибробластов в миофибробласты. Следует отметить, что, согласно полученным нами данным, традиционно использующийся в терапии туберкулеза ГИНК оказывает влияние на течение туберкулезного гранулематоза, минуя TGF- $\beta$ -зависимый путь, не влияя на уровень экспрессии гена TGF- $\beta$ , но подавляя экспрессию гена проколлагена III. Внутрибрюшинное введение МНФК приводило к снижению экспрессии ZEB1 у инфицированных животных, что согласуется с уменьшением экспрессии в их легочной ткани мРНК MMP-9; на сопряженность процессов с участием MMP-9 и ZEB1 указывает и наличие значимой корреляционной связи между величинами этих показателей ( $r = 0,68$ ;  $p = 0,0013$ ). К сожалению, менее инвазивный ингаляционный путь введения МНФК оказал



**Рис.** Экспрессия мРНК белков, сопряженных с фибропластическими процессами, в легких мышей при развитии туберкулезного воспаления. Результаты нормированы на контроль, выбросы исключены с использованием критерия Шовене. Обозначены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) отличия от величин соответствующих значений: \* – контроля, # – группы «БФ», ^ – группы «БГ»

**Fig.** Expression of protein genes participating in fibroplastic processes in mice lung during the development of tuberculous inflammation. Results are normalized to control, outliers excluded using Chauvenet's criterion. \* –  $p < 0.05$  compared with control, # –  $p < 0.05$  compared with BS group

ся неэффективен в отношении исследованных нами показателей.

Таким образом, обнаружено, что моделирование генерализованного туберкулезного гранулематоза сопровождается индукцией ЭМП и активацией профибротических процессов, что через 6 мес. проявлялось в повышении экспрес-

сии цепи  $\alpha 1$  коллагена III типа и TGF- $\beta$ . Назначение животным в течение 2 мес. традиционных (ГИНК) и оригинальных (декстразид, МНФК) препаратов с противотуберкулезной активностью обладает ингибирующей активностью разной степени выраженности в отношении различных маркеров данных процессов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Филимонов П.Н., Шкурупий В.А., Курунов Ю.Н., Пупышев А.Б., Панасенко С.Г. Исследование процессов фиброзирования в печени и легких при лечении лизосомотропным препаратом изониазида хронического туберкулеза у мышей. *Пробл. туберкулеза*. 1999; (1): 63–65.
1. Filimonov P.N., Shkurupiy V.A., Kurunov Yu.N., Pupyshev A.B., Panasenko S.G. Investigation of fibrosis processes in the liver and lungs in the treatment of chronic tuberculosis in mice with a lysosomotropic isoniazid preparation. *Problemy tuberkuleza = Problems of Tuberculosis*. 1999; (1): 63–65. [In Russian].
2. Corbel M., Belleguic C., Boichot E., Lagente V. Involvement of gelatinases (MMP-2 and MMP-9) in the development of airway inflammation and pulmonary fibrosis. *Cell Biol. Toxicol.* 2002; 18 (1): 51–61.
3. Das V., Bhattacharya S., Chikkaputtaiah C., Hazra S., Pal M. The basics of epithelial-mesenchymal transition (EMT): A study from a structure, dynamics, and functional perspective. *J. Cell. Physiol.* 2019. doi: 10.1002/jcp.28160
4. Goncalves R.S.G., Pereira M.C., Dantas A.T., Almeida A.R., Marques C.D.L., Rego M., Pitta I.R., Duarte A., Pitta M.G.R. IL-17 and related cytokines involved in systemic sclerosis: Perspectives. *Autoimmunity*. 2018; 51: (1). 1–9. doi: 10.1080/08916934.2017.1416467.
5. Gonzalez D.M., Medici D. Signaling mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition. *Sci. Signal.* 2014; 7 (344): re8. doi: 10.1126/scisignal.2005189.
6. Kage H., Borok Z. EMT and interstitial lung disease: a mysterious relationship. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2012; 18 (5): 517–523. doi: 10.1097/MCP.0b013e3283566721.
7. Mamuya F.A., Duncan M.K.  $\alpha$ V integrins and TGF- $\beta$ -induced EMT: a circle of regulation. *J. Cell. Mol. Med.* 2012; 16 (3): 445–455. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01419.x.
8. Pardali K., Moustakas A. Actions of TGF- $\beta$  as tumor suppressor and pro-metastatic factor in human cancer. *Biochim. Biophys. Acta*. 2007; 1775 (1): 21–62. doi: 10.1016/j.bbcan.2006.06.004.
9. Robert S., Gicquel T., Victoni T., Valenca S., Barreto E., Bailly-Maitre B., Boichot E., Lagente V. Involvement of matrix metalloproteinases (MMPs) and inflammasome pathway in molecular mechanisms of fibrosis. *Biosci. Rep.* 2016; 36 (4): e00360. doi: 10.1042/BSR20160107.
10. Rosenbloom J., Castro S.V., Jimenez S.A. Narrative review: fibrotic diseases: cellular and molecular mechanisms and novel therapies. *Ann. Intern. Med.* 2010; 152 (3): 159–166. doi: 10.7326/0003-4819-152-3-201002020-00007.
11. Saito A., Horie M., Nagase T. TGF- $\beta$  signaling in lung health and disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19 (8): E2460. doi: 10.3390/ijms19082460.
12. Samarakoon R., Higgins P.J. Integration of non-SMAD and SMAD signaling in TGF- $\beta$ 1-induced plasminogen activator inhibitor type-1 gene expression in vascular smooth muscle cells. *Thromb. Haemost.* 2008; 100 (6): 976–983.
13. Squeglia F., Ruggiero A., Berisio R. Collagen degradation in tuberculosis pathogenesis: the biochemical consequences of hosting an undesired guest. *Biochem. J.* 2018; 475 (19): 3123–3140. doi: 10.1042/BCJ20180482.
14. Stone R.C., Pastar I., Ojeh N., Chen V., Liu S., Garzon K.I., Tomic-Canic M. Epithelial-mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis. *Cell Tissue Res.* 2016; 365 (3): 495–506. doi: 10.1007/s00441-016-2464-0.
15. Weiskirchen R., Weiskirchen S., Tacke F. Organ and tissue fibrosis: Molecular signals, cellular mechanisms and translational implications. *Mol. Aspects Med.* 2019; 65: 2–15. doi: 10.1016/j.mam.2018.06.003
16. Willis B.C., Liebler J.M., Luby-Phelps K., Nicholson A.G., Crandall E.D., du Bois R.M., Borok Z. Induction of epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells by transforming growth factor- $\beta$ 1: potential role in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. J. Pathol.* 2005; 166 (5): 1321–1332.
17. Wilson M.S., Madala S.K., Ramalingam T.R., Gochuico B.R., Rosas I.O., Cheever A.W., Wynn T.A. Bleomycin and IL-1 $\beta$ -mediated pulmonary fibrosis is IL-17A dependent. *J. Exp. Med.* 2010; 207 (3): 535–552. doi: 10.1084/jem.20092121.

**Сведения об авторах:**

**Кожин П.М.**, к.м.н., ORCID 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com  
**Чечушков А.В.**, к.м.н., ORCID 0000-0002-0238-4533, e-mail: achechushkov@gmail.com  
**Зайцева Н.С.**, к.б.н., e-mail: natasha115@list.ru  
**Храпова М.В.**, к.б.н., ORCID 0000-0003-3397-8067, e-mail: khrapova@centercem.ru  
**Черданцева Л.А.**, к.м.н., ORCID 0000-0002-4729-3694, e-mail: cherdanceff@yandex.ru  
**Меньщикова Е.Б.**, д.м.н., ORCID 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen@centercem.ru  
**Троицкий А.В.**, к.м.н., e-mail: pharm2008@yandex.ru  
**Шкурупий В.А.**, академик РАН, проф., д.м.н., ORCID 0000-0002-5078-4216, e-mail: shk@centercem.ru

**Information about authors:**

**Kozhin P.M.**, candidate of medical sciences, ORCID 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com  
**Chechushkov A.V.**, candidate of medical sciences, ORCID 0000-0002-0238-4533, e-mail: achechushkov@gmail.com  
**Zaytseva N.S.**, candidate of biological sciences, e-mail: natasha115@list.ru  
**Khrapova M.V.**, candidate of biological sciences, ORCID 0000-0003-3397-8067, e-mail: khrapova@centercem.ru  
**Cherdantseva L.A.**, candidate of medical sciences, ORCID 0000-0002-4729-3694, e-mail: cherdanceff@yandex.ru  
**Menshchikova E.B.**, doctor of medical sciences, ORCID 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen@centercem.ru  
**Troitsky A.V.**, candidate of medical sciences, e-mail: pharm2008@yandex.ru  
**Shkurupy V.A.**, academician of RAS, professor, doctor of medical sciences, ORCID 0000-0002-5078-4216, e-mail: shk@centercem.ru