

## УЧАСТИЕ АКТИВИРОВАННЫХ КИСЛОРОДНЫХ МЕТАБОЛИТОВ И РЕДОКС-ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ KEAP1/NRF2/ARE В РАЗВИТИИ ГРАНУЛЕМАТОЗНОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Елена Брониславовна МЕНЬЩИКОВА<sup>1</sup>, Николай Константинович ЗЕНКОВ<sup>1</sup>,  
Антон Владимирович ЧЕЧУШКОВ<sup>1</sup>, Петр Михайлович КОЖИН<sup>1</sup>,  
Лилия Александровна ЧЕРДАНЦЕВА<sup>1</sup>, Татьяна Владимировна ШАРКОВА<sup>1</sup>,  
Оксана Валентиновна ПОТАПОВА<sup>1</sup>, Геннадий Юрьевич ЛЮБИМОВ<sup>2</sup>,  
Галина Алексеевна ЛЮБИМОВА<sup>2</sup>, Семен Евгеньевич ЯГУНОВ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины (НИИЭКМ)  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

<sup>2</sup> ФГБНУ НИИ фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФКИ)  
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

<sup>3</sup> ФГБОУ ВПО Новосибирский государственный педагогический университет  
630126, г. Новосибирск, ул. Виллюйская, 28

На модели внутривенного введения мышам вакцины БЦЖ проведено исследование действия фенольного антиоксиданта 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфата натрия (ТС-13), активирующего редокс-чувствительную систему антиоксидант-респонсивного элемента Keap1/Nrf2/ARE. На 30-е сутки после инфицирования мышей линии BALB/c в печени формировались гранулемы преимущественно макрофагального типа, одновременно наблюдалось усиление свободнорадикальных окислительных процессов, активность которых прямо коррелировала с численной плотностью и диаметром гранул. У животных, получавших с питьевой водой антиоксидант ТС-13 из расчета 100 мг/кг массы тела, отмечалось достоверное снижение как активности свободнорадикальных процессов в печени, так и формирования гранул, при этом продукция активированных кислородных метаболитов фагоцитами перитонеального экссудата, напротив, увеличивалась. Полученные данные свидетельствуют об участии системы Keap1/Nrf2/ARE в гранулемогенезе и о дихотомии реакции на него организма.

**Ключевые слова:** гранулематозное воспаление, макрофаги, активированные кислородные метаболиты, система Keap1/Nrf2/ARE, ТС-13.

До появления в середине прошлого столетия специфических противотуберкулезных препаратов (в период с 1944 по 1966 г. разработаны стрептомицин, изониазид, этамбутол, рифампицин и пипразинамид) патогенетическая терапия, направленная на усиление иммунитета и коррекцию нарушенных процессов жизнедеятельности, являлась основным методом лечения больных

туберкулезом. Несомненные успехи антимикробактериальной терапии привели к забвению или отодвинули на задний план курортное лечение (морские и горные курорты), диеты с рыбьим жиром и печенью трески, богатыми витамином D, а также другие методы патогенетической терапии. Однако появление в последние годы лекарственно устойчивых форм туберкулеза, вызван-

*Меньщикова Е.Б.* – д.м.н., зав. лабораторией, e-mail: lemen@centercem.ru

*Зенков Н.К.* – д.б.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: lemen@centercem.ru

*Чечушков А.В.* – научный сотрудник, e-mail: achechushkov@gmail.com

*Кожин П.М.* – научный сотрудник, e-mail: kozhinpm@gmail.com

*Черданцева Л.А.* – к.м.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: cherdanceff@yandex.ru

*Шаркова Т.В.* – к.б.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: tasharkova@yandex.ru

*Потапова О.В.* – д.м.н., зав. лабораторией, e-mail: potapova@centercem.ru

*Любимов Г.Ю.* – к.м.н., научный сотрудник, e-mail: glubimov@rambler.ru

*Любимова Г.А.* – лаборант, e-mail: glubimov@rambler.ru

*Ягунов С.Е.* – аспирант, e-mail: semenyagunov@gmail.com

ных резистентными к антибиотикам штаммами микобактерий, заставило фтизиатров вспомнить о патогенетических средствах, влияющих на иммунный статус (левамизол, этимизол и др.), на формирование соединительной ткани (преднизолон, пирогенал, лидаза) и обладающих антиоксидантным и защитным действием ( $\alpha$ -токоферол, тиосульфат натрия). Сегодня проводятся активные клинические исследования применения ИЛ-2 и кальцитриола (1,25-дигидроксивитамина D<sub>3</sub>), оказывающих достоверный эффект на функцию Т-лимфоцитов и макрофагов [6], циклоферона, повышающего синтез интерферона- $\gamma$  [7]. Несомненно, что применение патогенетической терапии в составе комплексного лечения больных туберкулезом способствует значительному повышению эффективности лечения и более совершенному восстановлению функционального состояния жизненно важных систем и организма в целом. Особого внимания заслуживает новое направление репрограммирования макрофагов в области туберкулезной гранулемы с помощью цитокинов и иммуномодуляторов, а также воздействий на определенные сигнальные системы и ключевые факторы транскрипции: NF- $\kappa$ B, AP-1, STAT, PPAR $\gamma$  и Nrf2 [2, 11, 17, 18].

На начальном этапе инфицирования (первые 30 дней) микобактерии переводят макрофаги в провоспалительное состояние M1, что необходимо для формирования гранулемы [10, 20]. Для классической активации макрофагов в состоянии M1 важны мембранные Toll-подобные рецепторы (TLR1, TLR2, TLR4 и TLR6) и факторы транскрипции (NF- $\kappa$ B, AP-1, IRF3, IRF5 и IRF9) [10, 11, 16]. Обладая выраженной цитотоксической и антимикробной активностью, опосредованной продукцией активных форм кислорода и азота, провоспалительных цитокинов, макрофаги в состоянии M1 играют важную роль в защите от внутриклеточных патогенов, однако избыточная активность таких клеток может проявляться тканедеструктивным эффектом [9, 11, 15]. Поэтому для патогенетической терапии туберкулеза важной мишенью может служить редокс-чувствительная сигнальная система антиоксидант-респонсивного элемента Keap1/Nrf2/ARE, регулирующая гены антиоксидантной защиты и детоксикации ксенобиотиков, а также активность ферментативных механизмов продукции активированных кислородных метаболитов (АКМ) [1, 12, 17]. В этой связи мы провели исследование влияния серосодержащего фенольного антиоксиданта ТС-13, активирующего фактор транскрипции Nrf2 [13], на формирование БЦЖ-индуцированных гранул и продукцию АКМ у мышей.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Водорастворимый фенольный антиоксидант 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфат натрия (ТС-13) синтезирован в НИИ химии антиоксидантов (Новосибирск, Россия), как описано ранее [4] (рис. 1).

Исследование проводили на мышах-самцах линии BALB/c двухмесячного возраста массой тела 18–22 г, содержащихся в виварии Института иммунологии СО РАМН (г. Новосибирск). Генерализованный туберкулезный гранулематоз моделировали однократным введением в хвостовую вену 0,5 мг вакцины БЦЖ в 0,2 мл изотонического раствора NaCl. Животные были разделены на три группы, по 6–10 особей в каждой: «контроль» (интактные мыши, которым внутривенно вводили 0,2 мл изотонического раствора NaCl), группа сравнения («БЦЖ» – мыши, инфицированные вакциной БЦЖ) и опытная группа («БЦЖ + ТС-13» – мыши, в течение 30 дней после инъекции вакцины БЦЖ получавшие с питьевой водой ТС-13 из расчета 100 мг/кг массы тела).

Мышей выводили из эксперимента путем дислокации позвонков в шейном отделе через 30 сут после инфицирования, когда в печени формировались типичные гранулемы. Получали перитонеальный экссудат промыванием брюшной полости холодной культуральной средой RPMI-1640 («Биолот», Россия) с 1 % фетальной бычьей сыворотки («Биолот»), затем вскрывали брюшную полость и проводили эвисцерацию печени. Печень взвешивали, забирали образцы тканей для гистологического исследования и приготовления гомогенатов.

Для светооптического исследования полученный материал после фиксации в 10%-м растворе нейтрального формалина обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и ксилолов с последующим заключением в парафин. Из образцов печени изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм и окрашивали по стандартной

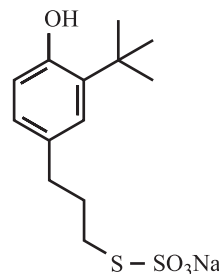


Рис. 1. Структура водорастворимого фенольного антиоксиданта 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфата натрия (ТС-13)

методике гематоксилином и эозином, наличие *Mycobacterium bovis* подтверждали с помощью специфического гистохимического метода окраски по Цилю – Нильсену. Методом морфометрии с помощью закрытой тестовой системы площадью  $3,64 \times 10^5$  мкм<sup>2</sup> и инструментов программы AxioVision (rel. 4,7) на микроскопе AxioImager A1 («Carl Zeiss», Германия) определяли численную плотность ( $N_{ai}$ ) и диаметр гранулем.

Для исследования продукции АКМ в гомогенатах печени при термостатировании (37 °С) регистрировали спонтанную хемилюминесценцию (ХЛ) гомогенатов печени (200 мг/мл бесцветной среды Хенкса), усиленную люминолом (5 нМ, «Serva», Германия) и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированную (39,5 мМ) люминол-зависимую. Интенсивность ХЛ выражали в условных единицах (1 усл. ед. = 5 импульсов за 1 с), каждое значение усредняли. Спонтанную и индуцированную форбол-12-миристат-13-ацетатом (РМА, «Sigma») продукцию АКМ клетками перитонеального экссудата определяли по флуоресценции 2,7-дихлородигидрофлуоресцеина DCF («Sigma», США), для чего их инкубировали в течение 15 мин в 1 мл бесцветной среды Хенкса с 10 мкМ диацетата DCF с последующим измерением спонтанной продукции АКМ (преимущественно H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), а также стимулированной 100 нМ РМА. Интенсивность DCF-зависимой флуоресценции ( $\lambda_{Em} = 488$  нм,  $\lambda_{Ex} = 520$  нм) измеряли на проточном цитофлуориметре FACSCalibur («Becton-Dickinson», США). Результаты выражали в виде отношений величин интенсивности флуоресценции клеток к принятому за 100 % усредненному значению спонтанной DCF-зависимой флуоресценции в контроле.

Поскольку распределение величин в выборках отличалось от нормального, данные представлены в виде медианы (Me), межквартильного размаха ( $Q_1-Q_3$ ) и диапазона без выбросов, различия между группами оценивали с помощью кри-

терия Манна – Уитни и считали значимыми при  $p < 0,05$ . Связь между признаками определяли с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена ( $r$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе гистологических срезов печени мышей, полученных на 30 сутки после инфицирования вакциной БЦЖ, окрашенных гематоксилином и эозином, выявлено наличие диффузно, преимущественно периваскулярно расположенных макрофагальных гранулем со значительным содержанием лимфоцитов. Их морфометрическое исследование показало, что как численная плотность, так и размеры гранулем у животных, получавших ТС-13, были соответственно в 2,5 и 1,4 раза меньше, чем у животных без добавления ТС-13 в питьевую воду (см. таблицу). В гранулемах обеих групп исследования преобладали макрофаги, при этом у животных группы «БЦЖ + ТС-13» было статистически меньше эпителиоидных клеток (на 29,8 %) и нейтрофилов (почти полное отсутствие) (см. таблицу).

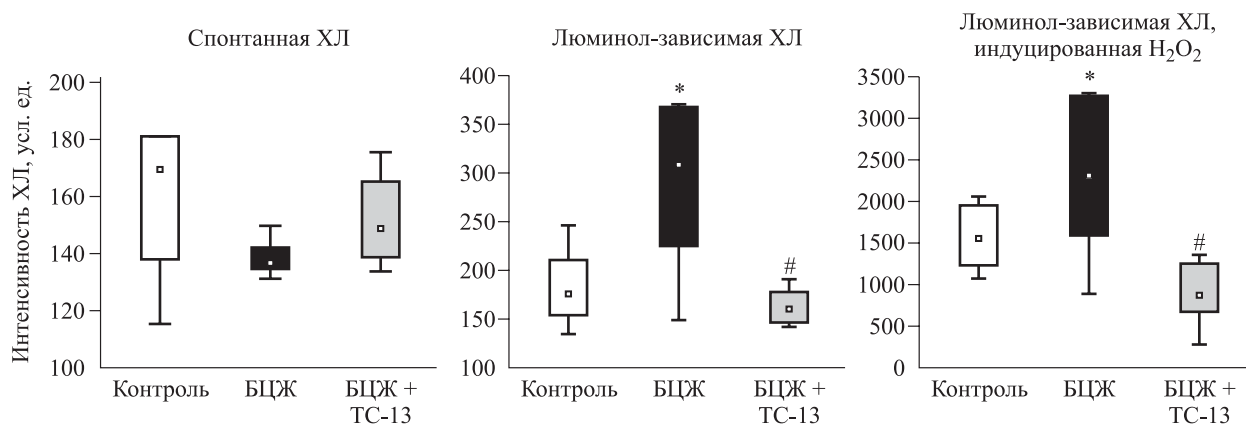
ХЛ анализ активности свободнорадикальных процессов в гомогенатах печени на 30 сутки после внутривенного введения вакцины БЦЖ показал выраженное увеличение интенсивности люминол-зависимой ХЛ (отражающей стационарную концентрацию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) относительно величины соответствующего показателя в контроле (в 8,6 раза,  $p = 0,025$ ), также значимо выше соответствующей контрольной величины была интенсивность индуцированной перекисью водорода люминол-зависимой ХЛ (рис. 2). В группе животных, получавших с питьевой водой ТС-13, в обоих случаях интенсивности люминол-зависимой ХЛ не отличались от значений контрольной группы и были значимо ниже значений группы «БЦЖ».

Таблица

Структурные изменения и клеточный состав гранулем в печени мышей через 30 дней после индукции гранулематоза внутривенным введением вакцины, Me ( $Q_1-Q_3$ )

Параметр исследования	Группа «БЦЖ»	Группа + «БЦЖ + ТС-13»
Численная плотность БЦЖ-гранулем ( $N_{ai}$ ), в $3,64 \times 10^5$ мкм <sup>2</sup>	0,86 (0,82–0,88)	0,34 (0,28–0,36) #
Диаметр БЦЖ-гранулем, мкм	71,90 (69,49–74,25)	51,63 (45,86–52,44) #
Макрофаги, %	55,90 (52,47–57,96)	56,17 (53,84–60,50)
Эпителиоидные клетки, %	14,61 (12,70–16,23)	10,26 (9,31–12,93) #
Лимфоциты, %	27,03 (23,75–31,05)	30,65 (23,05–34,88)
Нейтрофилы, %	1,45 (0,00–2,35)	0,00 (0,00–1,00) #
Фибробласты, %	2,17 (0,90–2,74)	2,07 (1,19–2,84)

Примечание. Здесь и на рис. 3 # – отличие от величины соответствующего параметра группы «БЦЖ» статистически значимо при  $p < 0,05$ .

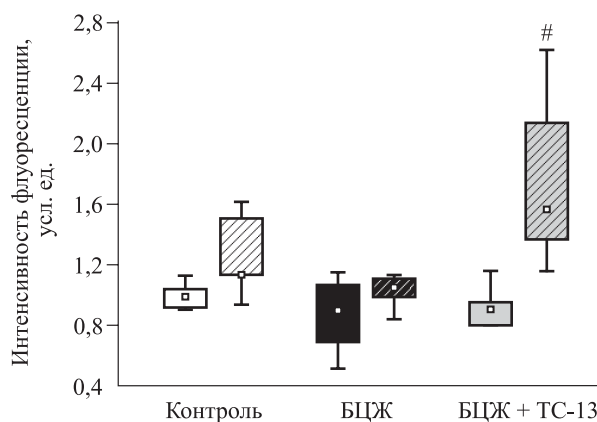


**Рис. 2.** Интенсивность ХЛ гомогенатов печени мышей через 30 дней после индукции гранулематоза внутривенным введением вакцины БЦЖ. Здесь и на рис. 3 обозначены медианы (квадратики), верхние и нижние квартили (прямоугольники), диапазоны без выбросов («усы»). Отмечены величины параметров, статистически значимо ( $p < 0,05$ ) отличающиеся от величин соответствующих показателей групп «Контроль» (\*) и «БЦЖ» (#)

Наблюдалась прямая корреляционная взаимосвязь между выраженностью гранулемообразования и интенсивностью свободнорадикальных окислительных процессов в печени: коэффициенты корреляции между численной плотностью и диаметром гранулем, с одной стороны, и люминол-зависимой ХЛ, с другой, составили соответственно 0,59 ( $p = 0,012$ ) и 0,73 ( $p = 0,001$ ), диаметром гранулем и люминол-зависимой H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированной ХЛ – 0,46 ( $p = 0,002$ ). Это свидетельствует о том, что свободнорадикальные процессы с участием АКМ важны для формирования БЦЖ-индуцированных гранулем в печени, и о справедливости высказанного нами ранее предположения о возрастании в них стационарной концентрации пероксида водорода [14]. Так, в работе [8] также показано, что формирование индуцированной *Schistosoma mansoni* гранулемы в печени мышей сопровождается постепенным повышением генерации в ней H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Посредством активации ферментов антиоксидантной защиты ТС-13 снижает продукцию АКМ и, как следствие, уменьшается численная плотность и диаметр формирующихся гранулем. Анализ клеточного состава гранулем (см. таблицу) выявляет значительное снижение содержания в них нейтрофилов, которые являются главным деструктивным фактором любого воспалительного процесса, в том числе и гранулематозного [3]. Выявленный факт позволяет утверждать, что редокс-чувствительная сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE может служить эффективной фармакологической мишенью при терапии туберкулеза, поскольку формирование стабильной гранулемы является важнейшим фактором сдерживания инфекции в латентной форме.

При исследовании активности свободнорадикальных процессов в перитонеальном экссудате установлено, что через 30 суток после внутривенного введения микобактерий у мышей не изменена ни спонтанная, ни стимулированная РМА генерация АКМ гранулоцитами (рис. 3). В то же время если конститутивная продукция АКМ перитонеальными фагоцитами мышей, получавших ТС-13 после индукции гранулематозного воспаления, также не отличалась от значений групп «контроль» и «БЦЖ», то интенсивность дыхательного «взрыва» при стимуляции РМА была значимо выше, чем величина соответствующего показателя животных группы «БЦЖ».

Таким образом, в отличие от спонтанно протекающего БЦЖ-гранулематоза, при котором уменьшение масштаба генерализованного воспа-



**Рис. 3.** Продукции АКМ клетками перитонеального экссудата мышей через 30 дней после индукции гранулематоза внутривенным введением вакцины БЦЖ (сплошная заливка – спонтанная, штриховка – стимулированная РМА)



ления предшествовало разрешению локального воспаления (активации процессов «диссоциации» и фиброзирования гранулем) [14], назначение ТС-13, напротив, способствовало угнетению гранулемогенеза, но увеличивало продукцию АКМ перитонеальными фагоцитами, т. е. на системном уровне. При этом выраженность дыхательного «взрыва» фагоцитов перитонеального экссудата находилась в обратной зависимости от количества и размеров гранулем (соответственно  $r_S = -0,70$ ,  $p = 0,003$ ;  $r_S = -0,64$ ,  $p = 0,007$ ), а также интенсивности свободнорадикальных процессов в печени ( $r_S = -0,59$ ,  $p = 0,006$  для люминол-зависимой ХЛ,  $r_S = -0,62$ ,  $p = 0,004$ ). Это показывает, что локальный воспалительный процесс в печени активирует всю систему мононуклеарных фагоцитов и индуцирует системный воспалительный процесс. Поэтому при воздействиях на сигнальные системы необходимо учитывать системный воспалительный ответ. Сегодня данный факт подтвержден множеством исследований, ярким примером которых служит широкое применение ингибиторов фактора некроза опухолей при лечении ревматоидных заболеваний, что повлекло за собой 3–7-кратное увеличение заболеваемости туберкулезом [5, 19].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование влияния индуктора редокс-чувствительной сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE ТС-13 на активность свободнорадикальных окислительных процессов при БЦЖ-индуцированном гранулемогенезе выявило, что назначение ТС-13 сопровождается угнетением продукции АКМ, снижением численной плотности и диаметра гранулем в печени, но усилением генерации фагоцитами перитонеального экссудата через 30 дней после инфицирования мышей линии BALB/c вакциной БЦЖ. Полученные данные свидетельствуют об участии системы Keap1/Nrf2/ARE в гранулемогенезе и дихотомии реакции на него организма.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 14-04-00551а) с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы».

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Ткачев В.О.* Редокс-чувствительная сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE как фармакологическая мишень // Биохимия. 2013. 78. (1). 27–47.
2. *Лямина С.В., Круглов С.В., Веденикин Т.Ю. и др.* Альтернативное репрограммирование M1/M2-фенотипа перитонеальных макрофагов мышей *in vitro* с помощью интерферона- $\gamma$  и интерлейкина-4 // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2011. (4). 235–239.
3. *Маянский Д.Н.* Хроническое воспаление. М.: Медицина, 1991. 272 с.
4. *Просенко А.Е., Клепикова С.Ю., Кандалинцева Н.В. и др.* Синтез и исследование антиоксидантных свойств новых водорастворимых серосодержащих фенольных соединений // Бюл. СО РАМН. 2001. (1). 114–126.
5. *Сигидин Я.А., Лукина Г.В.* Риск развития туберкулеза при использовании ингибиторов фактора некроза опухоли-альфа // Рус. мед. журн. 2009. (21). 1438–1442.
6. *Скрягина Е.М., Гуревич Г.Л., Астровко А.П. и др.* Эффективные пути решения проблемы туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в республике Беларусь // Туберкулез и болезни легких. 2014. 91. (3). 18–23.
7. *Суханов Д.С.* Иммунотропная терапия туберкулезной инфекции // Терапевт. арх. 2013. (3). 110–117.
8. *Abdallahi O.M., Hanna S., De Reggi M., Gharib B.* Visualization of oxygen radical production in mouse liver in response to infection with *Schistosoma mansoni* // Liver. 1999. 19. 495–500.
9. *Deffert C., Schappi M.G., Pache J.C. et al.* Bacillus Calmette-Guerin infection in NADPH oxidase deficiency: defective mycobacterial sequestration and granuloma formation // PLoS Pathog. 2014. 10. e1004325.
10. *Fallahi-Sichani M., Kirschner D.E., Linderman J.J.* NF- $\kappa$ B signaling dynamics play a key role in infection control in tuberculosis // Front. Physiol. 2012. 3. ID 170.
11. *Galvan-Pena S., O'Neill L.A.* Metabolic reprogramming in macrophage polarization // Front. Immunol. 2014. 5. ID 420.
12. *Kovac S., Angelova P.R., Holmstrom K.M. et al.* Nrf2 regulates ROS production by mitochondria and NADPH oxidase // Biochim. Biophys. Acta. 2015. 1850. 794–901.
13. *Menshchikova E., Tkachev V., Lemza A. et al.* Water-soluble phenol TS-13 combats acute but not chronic inflammation // Inflamm. Res. 2014. 63. 729–740.
14. *Menshchikova E., Zenkov N., Tkachev V. et al.* Oxidative stress and free-radical oxidation in BCG granulomatous development // Oxid. Med. Cell Longev. 2013. 2013. ID 452546.
15. *Murray P.J., Wynn T.A.* Protective and pathogenic functions of macrophage subsets // Nat. Rev. Immunol. 2011. 11. 723–737.
16. *Nicolle D., Fremont C., Pichon X. et al.* Long-term control of *Mycobacterium bovis* BCG infection in

the absence of Toll-like receptors (TLRs): investigation of TLR2-, TLR6-, or TLR2-TLR4-deficient mice // *Infect. Immun.* 2004. 72. 6994–7004.

17. *Stefanson A.L., Bakovic M.* Dietary regulation of Keap1/Nrf2/ARE pathway: focus on plant-derived compounds and trace minerals // *Nutrients.* 2014. 6. 3777–3801.

18. *Tugal D., Liao X., Jain M.K.* Transcriptional control of macrophage polarization // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013. 33. 1135–1144.

19. *Winthrop K.L., Iseman M.* Bedfellows: mycobacteria and rheumatoid arthritis in the era of biologic therapy // *Nat. Rev. Rheumatol.* 2013. 9. 524–531.

20. *Zuniga J., Torres-Garcia D., Santos-Mendoza T. et al.* Cellular and humoral mechanisms involved in the control of tuberculosis // *Clin. Dev. Immunol.* 2012. 2012. 193923.

## THE INVOLVEMENT OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND REDOX-SENSITIVE SIGNALING SYSTEM KEAP1/NRF2/ARE IN THE DEVELOPMENT OF GRANULOMATOUS INFLAMMATION

**Elena Bronislavovna MENSCHIKOVA<sup>1</sup>, Nikolay Konstantinovich ZENKOV<sup>1</sup>, Anton Vladimirovich CHECHUSHKOV<sup>1</sup>, Petr Mikhaylovich KOZHIN<sup>1</sup>, Liliya Aleksandrovna CHERDANTSEVA<sup>1</sup>, Tat'yana Vladimirovna SHARKOVA<sup>1</sup>, Oksana Valentinovna POTAPOVA<sup>1</sup>, Gennadiy Yur'evich LYUBIMOV<sup>2</sup>, Galina Alekseevna LYUBIMOVA<sup>2</sup>, Semen Evgen'evich YAGUNOV<sup>3</sup>**

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

<sup>2</sup> *Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology 630099, Novosibirsk, Yadrintsevskaya str., 14*

<sup>3</sup> *Novosibirsk State Pedagogical University 630126, Novosibirsk, Viluyskaya str., 28*

The effect of phenolic antioxidant 3-(3'-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl) propylthiosulphonate sodium (TS-13), which is an activator of redox-sensitive system Keap1/Nrf2/ARE, is investigated in the model of BCG vaccine intravenous injection. Granulomas of presumably macrophagic type were formed in liver of BALB/c mice at day 30 after infection, activity of free-radical oxidation processes in liver enhanced too and directly correlated with the granuloma numerical density and diameter. Activity of free-radical oxidation processes as well as granuloma formation significantly decreased in animals which received TS-13 (100 mg/kg body weight) in drinking water, whereas generation of reactive oxygen species by peritoneal exudate phagocyte increased. The data indicate the involvement of Keap1/Nrf2/ARE system in granulomogenesis and the dichotomy of the body reaction to it.

**Key words:** granulomatous inflammation, macrophage, reactive oxygen species, Keap1/Nrf2/ARE system, TS-13.

*Menschikova E.B.* – doctor of medical sciences, head of the laboratory, e-mail: [lemen@centercem.ru](mailto:lemen@centercem.ru)

*Zenkov N.K.* – doctor of biological sciences, leading researcher, e-mail: [lemen@centercem.ru](mailto:lemen@centercem.ru)

*Chechushkov A.V.* – researcher, e-mail: [achechushkov@gmail.com](mailto:achechushkov@gmail.com)

*Kozhin P.M.* – researcher, e-mail: [kozhinpm@gmail.com](mailto:kozhinpm@gmail.com)

*Cherdantseva L.A.* – candidate of medical sciences, leading researcher, e-mail: [cherdanceff@yandex.ru](mailto:cherdanceff@yandex.ru)

*Sharkova T.V.* – candidate of biological sciences, leading researcher, e-mail: [tasharkova@yandex.ru](mailto:tasharkova@yandex.ru)

*Potapova O.V.* – doctor of medical sciences, head of the laboratory, e-mail: [potapova@centercem.ru](mailto:potapova@centercem.ru)

*Lyubimov G.Yu.* – candidate of medical sciences, researcher, e-mail: [glubimov@rambler.ru](mailto:glubimov@rambler.ru)

*Lyubimova G.A.* – technician, e-mail: [glubimov@rambler.ru](mailto:glubimov@rambler.ru)

*Yagunov S.E.* – postgraduate student, e-mail: [semenyagunov@gmail.com](mailto:semenyagunov@gmail.com)