

## РОЛЬ NLRP3 ИНФЛАММАСОМЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

© 2024 г. С. Д. Казаков<sup>1,\*</sup>, Е. М. Каменских<sup>1</sup>, Е. В. Удуг<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, Томск, Россия*

*\*E-mail: docstastomsk@gmail.com*

Поступила в редакцию 31.01.2024 г.

После доработки 26.03.2024 г.

Принята к публикации 28.03.2024 г.

Ишемический инсульт (ИИ) – распространенное заболевание с высокой смертностью и риском инвалидизации населения во всем мире. К настоящему моменту вопрос патогенетической терапии остается до конца нерешенным в связи с ограниченной эффективностью и безопасностью реперфузионных мероприятий. Недавние исследования показали, что нейровоспаление играет важную роль в развитии ИИ и может являться терапевтической мишенью. NLRP3 инфламмасома является одним из важнейших медиаторов, опосредующих постишемические воспалительные реакции посредством активации каспазы-1, которая расщепляет предшественники интерлейкинов 1 $\beta$  и 18 до активных провоспалительных цитокинов, которые высвобождаются во внеклеточную среду. В данном обзоре приведены данные о структуре, процессе активации NLRP3 инфламмасы при ИИ. Описаны факторы и механизмы как способствующие активации данной инфламмасы, так и подавляющие ее.

*Ключевые слова:* инсульт, ишемия, нейровоспаление, иммунитет, инфламмасома

**DOI:** 10.31857/S0869813924050014, **EDN:** BLSSVT

### ВВЕДЕНИЕ

Острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) являются одной из основных причин высокой смертности и инвалидизации населения от сердечно-сосудистых заболеваний во всем мире. По данным за 2020 г. в мировой популяции насчитывалось 89.13 млн человек, перенесших ОНМК, и было зарегистрировано 11.71 млн новых случаев заболевания [1]. Смертность среди пациентов, перенесших ОНМК, составляет от 55 до 78% в первый год после выписки из стационара [2].

Среди ОНМК по этиологии и патогенезу выделяют геморрагические и ишемические инсульты. Ишемический инсульт (ИИ) преобладает в структуре ОНМК (составляет более 80% всех случаев ОНМК) и занимает второе место в мире по уровню смертности после болезней сердца [3–6]. В связи с этим остается актуальным вопрос изучения механизмов и способов нейропротекции, поиска новых молекулярных мишеней для разработки перспективных фармакологических агентов.

Известно, что степень ишемического повреждения тканей головного мозга связана со степенью и продолжительностью снижения кровотока [7]. Размер очага ИИ ассоци-

ирован с грубым неврологическим дефицитом, приводящим к стойкой инвалидизации, а в наиболее тяжелых случаях – летальному исходу [7, 8].

Патофизиологический процесс ИИ сложен и включает в себя нарушение внутриклеточного ионного гомеостаза, ацидоз, повышение внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$ , усиление генерации активных форм кислорода (АФК), цитокин-опосредованную цитотоксичность, активацию системы комплемента, разрушение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [9–14]. Данные факторы влияют на функции нейронов, глиальных и сосудистых клеток [11, 15, 16]. При этом важно отметить, что методики артериальной реканализации, являющиеся основным методом лечения ИИ, могут вызывать нежелательные явления. Так, при реперфузии ишемизированной ткани головного мозга скорость клеточного метаболизма и потребление кислорода резко повышаются, что приводит к повреждению митохондрий, увеличению уровня АФК, повышению внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  и инфильтрации нейтрофилов, что усугубляет повреждение посредством воспалительной реакции [17].

Воспаление представляет собой защитную реакцию, направленную на устранение основных причин повреждения клеток. Несмотря на то, что воспаление способно устранить инфекционные агенты и токсические вещества, воспалительные реакции в тканях головного мозга повышают степень повреждения в течение нескольких часов после начала ишемии [18]. В результате нарушения функционирования клеток центральной нервной системы (ЦНС) происходит высвобождение множества молекулярных сигналов, включая молекулярные паттерны, связанные с патогенами (pathogen-associated molecular pattern, PAMP), и молекулярные паттерны, связанные с повреждением (damage-associated molecular pattern, DAMP) [19]. Они способны активировать врожденную иммунную систему через рецепторы распознавания образов (pattern recognition receptors, PRR), что может способствовать ишемическому повреждению головного мозга [19].

Инфламмосомы представляют собой внутриклеточные белковые комплексы, являющиеся частью врожденного иммунитета. Известно, что инфламмосома семейства рецепторов, содержащих нуклеотидсвязывающий домен и богатые лейцином повторы (nucleotide-binding domain and leucine-rich-repeat-containing receptor, NLR), содержащая пириновый домен 3 (NLRP3 инфламмосома) является одним из важнейших медиаторов воспаления [20]. Активация инфламмосомы приводит к пироптозу – виду клеточной гибели, при которой обнаруживаются признаки набухания и разрыва клеточной мембраны, сопровождающиеся образованием пор [21]. Через данные поры во внеклеточное пространство выделяются многочисленные факторы воспаления, усиливая воспалительную реакцию и усугубляя повреждение. Таким образом, лечение, нацеленное на сигнальные пути NLRP3, может стать новой мишенью терапии ИИ за счет подавления воспалительной реакции [22].

В данной статье описана структура NLRP3 инфламмосомы, пути активации и факторы регуляции при ИИ. Представленные механизмы потенциально могут быть использованы для разработки новых стратегий терапии ИИ.

## СТРУКТУРА NLRP3 ИНФЛАММОСОМЫ, ПРОЦЕСС АКТИВАЦИИ

В 2002 г. команда исследователей под руководством Tschopp из Университета Лозанны сообщила об обнаружении белкового комплекса, активирующего каспазу-1 – NLRP1 инфламмосомы [23]. В последующие годы были идентифицированы и изучены другие типы инфламмосом, которые различались по структуре и факторам активации. Одной из наиболее изученных является инфламмосома NLRP3. NLRP3 инфламмосома представляет собой белковый комплекс, состоящий из трех субъединиц: одноименного сенсорного белка, адаптерного белка и эффектора (каспазы-1) [24, 25]. Сенсорный белок состоит из трех доменов: центрального домена связывания нуклеотидов и олиго-

меризации (nucleotide-binding and oligomerization domain, NOD, также известного как NACHT), домена, содержащего обогащенные лейцином повторы (leucine-rich repeat, LRR), и пиринового домена (pyrin domain, PYD). Адаптерный белок представляет собой связанный с апоптозом пятнышкообразный белок, содержащий домен рекрутирования каспазы (caspase activation and recruitment domain, CARD), также известный как ASC.

Сборка инфламماسомы NLRP3 начинается с цитозольных PRR, которые способны распознавать PAMP [26] и DAMP [27–30]. Среди PRR выделяют Toll-подобные рецепторы (toll-like receptor, TLR) и лектиновые рецепторы С-типа (C-type lectin receptor, CLR), которые являются трансмембранными белками, локализируются в плазматической мембране и эндосомах и взаимодействуют с DAMP и PAMP во внеклеточной среде [25]. Рецептор гена I, индуцируемого ретиноевой кислотой (retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptor, RLR), рецептор отсутствующий при меланоме 2 (absent in melanoma 2 (AIM2)-like receptor, ALR), а также вышеупомянутый NLR находятся во внутриклеточных компартментах [25].

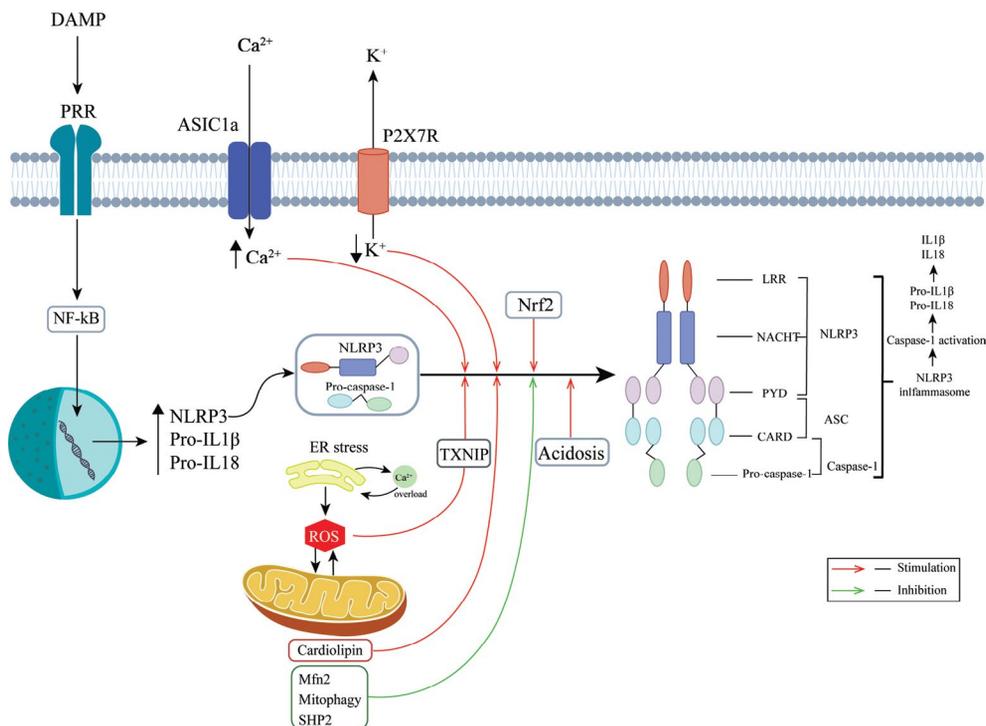
Путь активации NLRP3 инфламماسомы состоит из двух этапов: прайминга и активации. На этапе прайминга PAMP и DAMP через PRR активируют сигнальный путь ядерного фактора  $\kappa\text{B}$  (nuclear factor- $\kappa\text{B}$ , NF- $\kappa\text{B}$ ), что приводит к усилению экспрессии белка NLRP3, предшественников провоспалительных интерлейкинов  $1\beta$  (про-IL- $1\beta$ ) и 18 (про-IL-18) [31]. На этапе активации различные факторы, как например, АФК, аденозинтрифосфат (АТФ), отток ионов  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ -перегрузка инициируют сборку и активацию NLRP3 инфламماسомы [31–35] (рис. 1). При этом NLRP3 агрегируется в олигомеры, затем рекрутирует ASC через домен PYD, далее ASC рекрутирует прокаспазу-1 посредством взаимодействия домена CARD и индуцирует активацию каспазы-1 [36]. Активированная каспаза-1 расщепляет про-IL- $1\beta$  и про-IL-18 с образованием активных IL- $1\beta$  и IL-18 [36]. Как известно, IL- $1\beta$  и IL-18 участвуют в патогенезе ишемического повреждения головного мозга. Так, у мышей, лишенных обеих форм данных цитокинов, наблюдалось уменьшение размера инфаркта на 70% по сравнению с мышами дикого типа [37]. Таким образом, активация NLRP3 инфламماسомы может играть ключевую роль в повреждении тканей при ИИ.

## ПРОДУКЦИЯ NLRP3 ИНФЛАММАСОМЫ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ПАТОЛОГИИ

Известно, что NLRP3 инфламماسома экспрессируется в иммунных клетках и в клетках центральной нервной системы [38, 39].

Возможность продуцировать NLRP3 была исследована для глиальных клеток. Gustin и соавт. в 2015 г. продемонстрировали способность формировать активную инфламмасому NLRP3 клетками микроглии в мозге мышей [40]. Так, клетки микроглии после обработки липополисахаридом (ЛПС) экспрессировали NLRP3, ASC, каспазу-1, IL- $1\beta$ . В то же время уровень NLRP3 и ASC в астроцитах после воздействия ЛПС оставался низким. Исследователи также не наблюдали секрецию IL- $1\beta$  астроцитами, это, в том числе позволило сделать вывод, что NLRP3 инфламмасома не продуцируется в астроцитах мозга мышей [40]. Активация NLRP3 инфламмасомы в клетках микроглии была выявлена при церебральной ишемии/реперфузии (И/Р) у крыс и мышей, во время которой наблюдалось усиление экспрессии NLRP3, ASC и каспазы-1 [41, 42].

Более противоречивыми являются данные об активации NLRP3 инфламмасомы в нейронах. Так, Yang и соавт. показали, что при окклюзии средней мозговой артерии (СМА) у мышей NLRP3 инфламмасома экспрессировалась в микроглии и эндотелиальных клетках, но не в нейронах [43]. Однако по другим данным, экспрессия NLRP3



**Рис. 1.** Структура NLRP3 инфламмосомы и гипотетические факторы активации. Обозначения: ASC – связанный с апоптозом пятнышкообразный белок, содержащий домен активации и рекрутирования каспазы; ASIC1a – кислото-чувствительный ионный канал; CARD – домен активации и рекрутирования каспазы; DAMP – молекулярные паттерны, связанные с повреждением; IL18 – интерлейкин 18; IL1β – интерлейкин 1β; LRR – домен, содержащий обогащенные лейцином повторы; Mfn2 – митофузин 2; NACHT – центральный домен связывания нуклеотидов и олигомеризации; NF-kB – ядерный фактор-κB, NLRP3 – NOD-подобный рецептор, содержащий пириновый домен 3; Nrf2 – ядерный фактор 2-родственный эритроидному фактору 2; P2X7R – пуринергический лиганд-зависимый ионный канал 7; PRR – рецептор распознавания образов; PYD – пириновый домен; SHP2 – тирозинфосфатаза 2, содержащая домен гомологии Src 2; TXNIP – тиоредоксин-взаимодействующий белок; ROS – активные формы кислорода; ER – эндоплазматический ретикулум.

инфламмосомы, а также уровень IL-1β и IL-18 повышались в первичных кортикальных нейронах мышей с ИИ *in vivo*, а также в условиях кислородно-глюкозной депривации (КГД) *in vitro* [22]. Подобное противоречие результатов исследований может быть обусловлено различными протоколами моделирования ишемии. В более позднем исследовании Gong и соавт. в 2018 г. продемонстрировали, что при И/Р головного мозга крыс экспрессия NLRP3 инфламмосомы наблюдается сначала в клетках микроглии и лишь позднее в нейронах и в значительно меньшем количестве в эндотелиальных клетках [44]. В 2022 г. в исследовании Shi и соавт. было показано, что у крыс с окклюзией СМА по сравнению с ложнооперированными животными происходит повышение содержания NLRP3, ASC, каспазы-1, IL-1β и IL-18 в клетках периферической коры зоны инсульта [45].

Эксперименты с использованием селективного блокатора NLRP3 инфламмосомы указывают на ее важную роль в повреждении клеток при ИИ. Так, MCC950, селектив-

ный ингибитор NLRP3 инфламмасы, дозозависимым образом уменьшал размер инфаркта, снижал экспрессию NLRP3, ASC, каспазы 1 и провоспалительных цитокинов у мышей с окклюзией СМА [46]. Эти данные были подтверждены в другом исследовании, в котором MCC950 снижал уровень матричной рибонуклеиновой кислоты (РНК, мРНК), NLRP3, каспазы-1, IL-1 $\beta$ , уменьшал выраженность неврологической дисфункции и повышал 28-дневную выживаемость у мышей с диабетом после церебральной И/Р [47].

## ФАКТОРЫ АКТИВАЦИИ NLRP3 ИНФЛАММАСОМЫ ПРИ ИИ

### МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ

Повреждение митохондрий и их дисфункция являются важным звеном патогенеза ИИ [48, 49]. Более того, митохондрии участвуют в активации NLRP3 инфламмасы, что приводит к нейровоспалению и пироптозу [50]. Так, Gong и соавт. в своей работе на модели крыс с временной окклюзией СМА подчеркивали, что после И/Р митохондриальная дисфункция играет важную роль в активации NLRP3 инфламмасы в клетках микроглии [44]. Какие процессы активируются при И/Р в митохондриях и каким образом они могут влиять на активацию NLRP3 инфламмасы?

Многими научными коллективами было показано, что при И/Р происходит открытие митохондриальных пор (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) [51, 52]. При открытии mPTP высвобождаются DAMP (например, такие как АТФ, АФК, кардиолипин), которые способны активировать NLRP3 инфламмасому [53]. Однако в то же время митофагия и ряд митохондриальных белков, таких как тирозинфосфатаза 2, содержащая домен гомологии Src 2 (src homology region 2 domain-containing phosphatase-2, SHP2), митофузин 2 (Mitofusin-2, Mfn2) и ядерный фактор 2-родственный эритроидному фактору 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2), подавляя активацию NLRP3 инфламмасы [54].

Помимо этого, известно, что компоненты NLRP3 инфламмасы транслоцируются в митохондрии посредством адаптивного митохондриального противовирусного сигнального белка (mitochondrial antiviral-signaling protein, MAVS) [55]. В локализации NLRP3 инфламмасы на митохондриях также участвуют микротрубочки, опосредуя Ca<sup>2+</sup>-зависимую ассоциацию ASC с белком NLRP3 [56, 57]. Кардиолипин, специфичный для митохондрий фосфолипид, является одним из DAMP и может перемещаться с внутренней митохондриальной мембраны на внешнюю, где способен напрямую связываться с NLRP3, способствуя его активации [58].

Таким образом, механизмы участия митохондрий в активации NLRP3 инфламмасы при ИИ достаточно обширны и включают в себя различные факторы. Роль некоторых из них рассмотрена ниже.

*АФК.* Известно, что при ишемии тканей головного мозга происходит повышение внутриклеточного уровня АФК [59]. Уровень АФК может увеличиваться за счет нарушения цепи переноса электронов, активации НАДФН-оксидазы, ксантиндегидрогеназы, фосфолипазы А2 или NO-синтазы (NO synthase, NOS) [60–62]. Важную роль в усилении продукции АФК при И/Р играет стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР), при котором происходит активация вышеупомянутой НАДФН-оксидазы [63]. К чему может привести повышенная генерация и увеличение содержания АФК? В первую очередь повышение уровня АФК приводит к накоплению ионов Ca<sup>2+</sup> в митохондриях, что еще больше усугубляет их повреждение [64]. Однако АФК способны не только усиливать повреждение митохондрий, но и приводить к активации NLRP3 инфламмасы [34].

Показано, что митохондриальные АФК (мтАФК) важны для прайминга и активации NLRP3. Так, было обнаружено, что мтАФК регулирует инициацию NLRP3 путем уси-

ления его транскрипции [65]. Помимо этого, от мтАФК зависит деубиквитинирование NLRP3, являющееся нетранскрипционным сигналом прайминга [66]. В исследовании, проведенном на макрофагах мышей (RAW 264.7) с использованием поглотителя АФК, было продемонстрировано, что элиминация мтАФК ингибирует деубиквитинирование NLRP3 и подавляет активацию NLRP3 инфламмосомы, индуцированную ЛПС [67]. Wang и соавт. в 2019 г. показали, что мтАФК индуцировали активацию NLRP3 инфламмосомы и NLRP3-зависимое повреждение лизосом [68]. Удаление мтАФК устраняло данные эффекты [69].

Продемонстрировано, что поглотитель АФК N-ацетилцистеин (NAC) эффективно снижал экспрессию белка NLRP3, содержание IL-1 $\beta$  и каспазы-1 *in vitro* на модели клеток BV2, обработанных ЛПС [70]. NAC также предотвращал ЛПС-индуцированное повышение экспрессии NLRP3, секреции IL-1 $\beta$  и каспазы-1 в макрофагах человека, полученных из линии THP-1 [71]. Juliana и соавт. сообщали, что NAC и миметик митохондриальной супероксиддисмутазы Mito-ТЕМРО ингибировали активацию NLRP3 инфламмосомы в макрофагах N1-8, но не в макрофагах NG5 [72].

Имеются данные, согласно которым передача сигнала мтАФК-NLRP3 происходила в микроглиальных клетках BV2 после кислородно-глюкозной депривации/реоксигенации (КГД/Р) [73]. Ингибирование высвобождения мтАФК подавляло активацию NLRP3 инфламмосомы и снижало NLRP3-опосредованное повреждение микроглии при церебральной И/Р у крыс [73].

Важно отметить, что повышенный уровень АФК способствует диссоциации тиоредоксин-взаимодействующего белка (thioredoxin-interacting protein, TXNIP) и его транслокации из ядра в цитоплазму [74]. Известно, что TXNIP способен связываться с доменом LRR рецептора NLRP3, тем самым индуцируя активацию NLRP3 инфламмосомы [75].

Показано, что АФК повышали экспрессию TXNIP у крыс и мышей при церебральной И/Р [76]. При этом сверхэкспрессия TXNIP усугубляла повреждение головного мозга, способствовала активации NLRP3 инфламмосомы, каспазы-1 и высвобождению IL-1 $\beta$  [76, 77]. В экспериментах *in vitro* было продемонстрировано, что активация сигнального пути АФК/TXNIP/NLRP3 индуцировала пироптоз в первичных кортикальных нейронах при КГД/Р [76], в то время как нокдаун TXNIP значительно снижал экспрессию NLRP3 [78]. Данные результаты свидетельствуют о том, что АФК участвуют в TXNIP-опосредованной активации NLRP3 инфламмосомы.

**Кардиолипин.** Помимо АФК, при ИИ наблюдается высвобождение из митохондрий кардиолипина [53]. Кардиолипин является анионным фосфолипидом на внутренней мембране данных органелл, где он участвует в процессе окислительного фосфорилирования [79]. Окисление и гидролиз кардиолипина являются одними из ключевых механизмов повреждения головного мозга, вызванного И/Р [80]. Имеются данные, что кардиолипин может активировать NLRP3 инфламмосому после ишемии [81]. Так, кардиолипин напрямую взаимодействует с LRR и с каспазой-1 NLRP3 инфламмосомы [52]. Помимо этого, активация NLRP3 инфламмосомы может происходить вследствие того, что рецептор NLRP3 связывается с митохондриями с помощью кардиолипина при участии мтАФК [82]. В исследовании, выполненном на макрофагах мышей (линия клеток J774A.1), продемонстрировано, что блокада синтеза кардиолипина снижает активацию NLRP3 инфламмосомы [58]. Добавление кардиолипина в клетки с нарушенным синтезом данного фосфолипида приводит к активации NLRP3 инфламмосомы и запускает активацию каспазы-1 [58].

**Митохондриально-ассоциированная мембрана (mitochondria-associated membrane, МАМ).** Взаимодействие ЭР с митохондриями опосредовано МАМ – мембранной структурой, которая играет ключевую роль в обмене Ca<sup>2+</sup> между этими двумя органеллами [83]. Примечательно, что усиление взаимодействия митохондрий и ЭР посредством МАМ усугубляет митохондриальную дисфункцию и повышает генерацию АФК [84].

Показано, что активация NLRP3 инфламмосомы связана с перемещением белка NLRP3 в митохондрии и МАМ [58, 85]. При повреждении митохондрий вследствие И/Р происходит накопление NLRP3 и ASC в МАМ [85]. Исследование, проведенное на мышцах с нокаутом МАМ-родственного белка р66Shc, которым выполняли окклюзии СМА, показало, что нокаут р66Shc способствовал сохранению целостности ГЭБ, снижению площади инфаркта, уменьшению неврологического дефицита и повышению выживаемости [86]. Однако по имеющимся данным, нельзя однозначно сделать вывод о роли МАМ в активации NLRP3 инфламмосомы.

*Митофагия.* Известно, что митохондрии, поврежденные вследствие ишемии, удаляются с помощью митофагии – механизма, связанного с аутофагией [87]. Митофагия является важным механизмом снижающим гибель клеток вследствие дисфункции митохондрий [87]. Учитывая важную роль этих органелл в активации NLRP3 инфламмосомы, логично предположить, что митофагия способна оказывать нейропротекторное действие путем ингибирования данной активации.

Действительно, в экспериментах на крысах, которым выполняли окклюзию СМА, было продемонстрировано, что индукция митофагии защищает ткани головного мозга от И/Р путем ингибирования активации NLRP3 инфламмосомы [88]. Ингибитор митофагии mitochondrial division inhibitor-1 (mdivi-1) нивелировал данный защитный эффект [88].

В исследовании, выполненном на крысах с двусторонней окклюзией общей сонной артерии для моделирования хронической церебральной гипоперфузии, было показано, что при данном воздействии наблюдается гиперактивация микроглии, повышение уровня АФК, активация NLRP3 инфламмосомы и высвобождение IL-1 $\beta$  [89]. Ингибирование митофагии 3-метиладенином (3-МА) приводило к увеличению уровня NLRP3, каспазы-1 и IL-1 $\beta$  [89]. Zhou и соавт. продемонстрировали что ингибитор митофагии/аутофагии 3-МА в клетках THP1 приводил к накоплению поврежденных митохондрий и усилению генерации АФК. Повышенная генерация АФК, вызванная 3-МА, сопровождалась дозозависимой секрецией IL-1 $\beta$  [85].

*Mfn2.* Mfn2 представляет собой белок внешней мембраны митохондрий и играет ключевую роль в слиянии митохондрий. Сообщалось, что при индукции экспрессии Mfn2 у крыс в условиях церебральной И/Р наблюдается снижение экспрессии NLRP3 и IL-1 $\beta$  в микроглии или астроцитах [90]. Ichinohe и соавт. показали, что Mfn2 способен связываться с белком NLRP3, а также что Mfn2 необходим для активации NLRP3 инфламмосомы [91]. Однако поскольку это исследование было сосредоточено на механизме активации NLRP3 инфламмосомы РНК-вирусами, требуются дальнейшие исследования для более полного понимания роли Mfn2 в активации NLRP3 инфламмосомы другими триггерами, в том числе при ИИ.

*Nrf2.* Nrf2 является фактором транскрипции, регулирующим антиоксидантный ответ при окислительном стрессе [92]. При этом известно, что нокаут Nrf2 усугубляет окислительный стресс и воспаление [93].

Было отмечено, что при усилении экспрессии Nrf2 в клетках THP-1, обработанных ЛПС и АТФ, происходило снижение экспрессии NLRP3, каспазы-1 и IL-1 $\beta$  [71]. В клетках с дефицитом Nrf2 наблюдалось также повышение уровня каспазы-1, что было связано с усилением транскрипции NLRP3, вызванной избытком АФК [71]. Способность Nrf2 подавлять АФК-индуцированную активацию NLRP3 инфламмосомы была также показана *in vitro* в микроглиальных клетках BV2 при КГД/Р [94].

Помимо этого, продемонстрировано, что нокаут эндогенного Nrf2 с помощью микроРНК (миРНК) Nrf2 увеличивал экспрессию TXNIP, NLRP3, каспазы-1 и IL-1 $\beta$  в головном мозге крыс после окклюзии СМА [95]. Эти данные были подтверждены в другом исследовании, в котором крысам выполняли окклюзию СМА с последующей реперфузией [96]. Для индукции экспрессии Nrf2 использовали трет-бутилгидрохинон, а миРНК Nrf2, Trx1 для нокаута. При повышении экспрессии Nrf2 содержание

TXNIP в цитоплазме, NLRP3, каспазы-1, IL-18 и IL-1 $\beta$  значительно снижалось [96]. Нокдаун Nrf2 приводил к противоположным результатам. При этом нокдаун тиоредоксина 1 (thioredoxin1, Trx1) вызывал те же эффекты, что и ингибирование Nrf2, однако был устранен протекторный эффект Nrf2 [96]. Следовательно, Nrf2 оказывал протекторный эффект, подавляя активацию NLRP3 инфламماسомы во время И/Р через комплекс TRX/TXNIP.

*SHP2*. SHP2 является необходимым посредником в сигнальных путях, важных для выживания нейронов при И/Р [97]. Так, повреждение и гибель нейронов при церебральной И/Р была значительно выше у трансгенных мышей с неактивным белком SHP2 по сравнению с мышами дикого типа [97].

SHP2 также является регулятором активации NLRP3 [98]. Guo и соавт. сообщали, что при воздействии индукторов активации NLRP3 инфламماسомы (АТФ, урата натрия и нигерицина) SHP2 транслоцируется в митохондрии и связывается с адениннуклеотидтрансферазой 1 (Adenine Nucleotide Transferase 1, ANT1), которая предотвращает открытие мРTP, тем самым ингибируя активацию NLRP3 инфламماسомы [98]. При этом нокдаун SHP2, как и ингибирование с помощью NSC87877 или RHPS1, усиливали активацию NLRP3 инфламماسомы [98].

Таким образом, SHP2 может участвовать в подавлении активации NLRP3 инфламماسомы, однако требуются дальнейшие исследования для оценки данного эффекта при ИИ.

## НАРУШЕНИЕ ИОННОГО ГОМЕОСТАЗА

*Ионы Ca<sup>2+</sup>*. Внутриклеточная концентрация ионов Ca<sup>2+</sup> может повышаться при усилении притока из внеклеточного пространства или при усилении их выхода из ЭР [99]. Накопление Ca<sup>2+</sup> является одним из основных факторов открытия мРTP, что приводит не только к высвобождению митохондриальных компонентов, активирующих NLRP3 инфламмасому, но и к гибели клетки [100, 101]. При некротической или пироптотической гибели клетки происходит повышение концентрации ионов Ca<sup>2+</sup> в межклеточном пространстве. Это приводит к распространению повреждения за счет активации на соседних нейрональных и глиальных клетках Ca<sup>2+</sup>-чувствительных рецепторов (Calcium-Sensing Receptor, CaSR) и G-белок сопряженных рецепторов GPR6CA, что, в свою очередь, ведет к увеличению содержания внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, снижению уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и к последующей активации NLRP3 [102–104].

Согласно данным Wang и соавт., трихлорид гадолиния, агонист CaSR, усиливал экспрессию NLRP3, расщепленной каспазы-1 и IL-1 $\beta$  в ипсилатеральной коре головного мозга мышей после инсульта [105]. NPS-2143, ингибитор CaSR, предотвращал данный эффект [105]. Показано также, что нокдаун CaSR снижал активацию NLRP3 инфламماسомы [104].

Помимо вышеуказанного механизма повышения внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup>, в условиях ишемии наблюдается активация кальциевого канала TRPM2 (transient receptor potential melastatin 2), что также может привести к Ca<sup>2+</sup> перегрузке. Известно, что TRPM2 способствует активации NLRP3 при повреждении нейронов в условиях КГД [106]. Данный эффект не проявляется при нокдауне гена TRPM2 [106]. Таким образом, CaSR и TRPM2 могут играть важную роль в Ca<sup>2+</sup>-опосредованной активации NLRP3 инфламماسомы.

Нельзя не отметить, что высокая внутриклеточная концентрация Ca<sup>2+</sup> может приводить к активации митохондриального унипортера кальция (mitochondrial calcium uniporter, MCU) и усилению транспорта Ca<sup>2+</sup> в митохондрии, что ведет к снижению их трансмембранного потенциала и впоследствии к активации NLRP3 инфламماسомы [107].

Эффект блокаторов кальциевых каналов L-типа подтверждает участие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в активации NLRP3 инфламماسомы. Так, никардипин, блокатор кальциевых каналов, эффективно ингибировал прайминг NLRP3 инфламماسомы в моноцитарных клетках THP-1 [108]. Блокатор кальциевых каналов верапамил снижал экспрессию NLRP3 в мозговой ткани мышей с внутримозговым кровоизлиянием [109].

Однако возможно, что АФК и ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , хотя и играют важную роль, но не являются обязательными факторами активации NLRP3 инфламماسомы. Muñoz-Planillo и соавт. в своем исследовании сообщали, что при использовании различных активаторов NLRP3 инфламماسомы обязательным общим триггером активации явился только отток ионов  $\text{K}^+$  через клеточную мембрану, а не усиление генерации АФК или повышение внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  [33].

**Ионы  $\text{K}^+$ .** Известно, что при ИИ в поврежденных клетках происходит усиление выходящего тока ионов  $\text{K}^+$  и снижение его внутриклеточной концентрации [110, 111]. В свою очередь, снижение внутриклеточной концентрации  $\text{K}^+$  является важным фактором активации NLRP3 инфламماسомы.

Установлено, что нигерицин и BB15C1, ионофоры  $\text{K}^+$ , индуцировали олигомеризацию NLRP3 *in vitro* в клетках НЕК-293Т почки человека [112]. Данный эффект устранялся внеклеточным  $\text{KCl}$  [112]. Показано, что повышение концентрации внеклеточного  $\text{K}^+$  до 130 мМ блокирует процессинг и высвобождение каспазы-1 и IL-1 $\beta$ , вызванное нигерицином, в макрофагах мышей [113]. Продемонстрировано также, что высокая концентрация внеклеточного  $\text{K}^+$  ингибирует активацию NLRP3 в моноцитах человека [113].

Повышение внеклеточной концентрации  $\text{K}^+$  может приводить к активации паннексина 1 [114]. Каналы паннексина 1 способны транспортировать молекулы мессенджеров, в частности АТФ, что способствует активации пуриnergического лиганд-зависимого ионного канала 7 (purinergic receptor P2X ligand-gated ion channel 7, P2X7R), который, в свою очередь, активирует каналы паннексина 1 с образованием петли положительной обратной связи, вызывая тем самым чрезмерный выход ионов  $\text{K}^+$  из клетки с одновременным снижением входящего  $\text{K}^+$  тока [115, 116]. Таким образом, участие P2X7R в активации NLRP3 инфламماسомы требует отдельного внимания.

**P2X7R.** P2X7R представляет собой неселективный АТФ-управляемый катионный канал, расположенный на мембранах различных иммунных клеток и некоторых клеток ЦНС. В ЦНС P2X7R преимущественно локализуется на клетках микроглии, резидентных макрофагах головного мозга [117]. Экспрессия P2X7R с низкой плотностью также отмечена в астроцитах и олигодендроцитах [118, 119].

Известно, что при ИИ происходит накопление молекул АТФ в поврежденных тканях, что приводит к активации P2X7R [120]. Активация P2X7R, в свою очередь, способствует увеличению внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ , оттоку ионов  $\text{K}^+$  и активации NLRP3 инфламماسомы [121, 122]. Xinchun и соавт. продемонстрировали, что экспрессия P2X7R увеличивалась *in vivo* в ишемизированной ткани головного мозга мышей после церебральной ИР, а также *in vitro* в кортикальных нейронах при КГД [122]. Бриллиантовый синий G (Brilliant Blue G, BBG), блокатор P2X7R, значимо снижал размер инфаркта головного мозга, апоптоз нейронов (количество TUNEL $^+$  клеток) и уменьшал неврологические нарушения, вызванные ишемическим повреждением [122]. BBG также значимо снижал экспрессию NLRP3, ASC и каспазы-1 как *in vivo*, так и *in vitro* [122]. Следовательно, P2X7R играет важную роль в активации NLRP3 инфламماسомы при ИИ.

**Ацидоз.** В условиях гипоксии тканей головного мозга наблюдается усиление анаэробного гликолиза. Это позволяет кратковременно поддерживать энергетический баланс клеток, однако приводит к генерации большого количества лактата и протонов, и, как следствие, к локальному снижению pH [123]. Данные негативные эффекты вызывают необратимую гибель клеток головного мозга [124]. Таким образом, лактоацидоз тесно связан с ИИ [125].

Согласно нескольким исследованиям, снижение pH может являться триггером активации NLRP3 инфламмосомы. Так, Rajamäki и соавт. в своем исследовании показали, что внутриклеточный ацидоз приводит к повышению содержания мРНК, кодирующей рецептор NLRP3, активации каспазы-1 и усилению секреции IL-1 $\beta$  в макрофагах TLR-1 по механизму, включающему в себя отток ионов K<sup>+</sup> [126]. Помимо этого, снижение pH внеклеточной среды может активировать кислото-чувствительные ионные каналы (Acid-Sensing Ion Channels, ASIC), проницаемые для ионов Ca<sup>2+</sup> [127]. Увеличение внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup> может приводить к активации NLRP3 инфламмосомы, как описано выше. Известно, что ASIC1a экспрессируются в нейронах ЦНС, в том числе в коре головного мозга, гиппокампе и мозжечке [128]. В экспериментах показано, что интрацеребровентрикулярная инъекция PcTx1, ингибитора ASIC1a, уменьшала объем инфаркта на 60% после окклюзии СМА у крыс и мышей [127, 129]. Нокаут гена ASIC1a обеспечивал сопоставимую степень нейропротекции от ишемического повреждения [127]. Ca<sup>2+</sup>-проницаемые ASIC были обнаружены и в нейронах головного мозга человека [130]. Активация этих каналов, как и на модели животных, способствовала повреждению нейронов, которое было ослаблено блокадой каналов ASIC1a [130].

Таким образом, ацидоз, возникающий при ИИ, вероятно, способствует активации NLRP3 инфламмосомы опосредованно, по механизму, включающему в себя отток ионов K<sup>+</sup> и приток ионов Ca<sup>2+</sup>.

## ОЦЕНКА РОЛИ ИНФЛАММОСОМЫ NLRP3 ПРИ ИИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Описано наличие NLRP3, каспазы-1, IL-1 $\beta$  и IL-18 в аутопсийных биоптатах ткани мозга, полученных от пациентов, перенесших ИИ [131]. В исследовании Lv и соавт. на популяции пациентов в Китае ( $n = 234$ ) было установлено, что мужчины, носители гетерозиготных однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) rs2043211 в гене CARD8 и rs10754558 в гене NLRP3, имеют более высокий риск развития ИИ [132].

В другом исследовании более высокие значения сывороточных концентраций ASC, каспазы-1, IL-18 наблюдали у пациентов с ИИ по сравнению с контрольной группой. Последующий анализ продемонстрировал высокую диагностическую способность белков инфламмосомы NLRP3 для верификации ИИ: area under the curve (AUC) = 0.75 для каспазы-1 (95% доверительный интервал (ДИ): 0.5369–0.9631; чувствительность – 85%; специфичность – 50%) и AUC = 0.9975 для ASC (95% ДИ: 0.9914–1.004; чувствительность – 100%; специфичность – 96%) [133]. Lu и соавт. наблюдали пиковые концентрации IL-1 $\beta$  и NLRP3 в крови через 24 ч после дебюта ИИ, кроме того, уровень IL-1 $\beta$  коррелировал с размером очага ишемического повреждения головного мозга, а уровень NLRP3 – с тяжестью неврологического дефицита по шкале инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS) [134]. При исследовании состава тромбов, извлеченных при механической тромбэкстракции (МТЭ) из окклюзированных сосудов пациентов с ИИ, выявлено более высокое содержание каспазы-1, ASC, IL-1 $\beta$  по сравнению с их концентрацией в плазме как у пациентов с ИИ, так и у здоровых добровольцев [135]. Присутствие в тромботических массах каспазы-1 и ASC было ассоциировано с наличием в них цитруллинированного гистона H3 – маркера нетоза, что может говорить об индукции инфламмосомой NLRP3 этого процесса, принимающего ключевую роль в тромбообразовании. Более того, повышенное содержание IL-1 $\beta$  в тромбе было связано с большим количеством проходов, необходимых для достижения полной реканализации, а следовательно, и с меньшей эффективностью МТЭ [135].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные позволяют заключить, что NLRP3 инфламмосома играет важную роль при постишемических повреждениях головного мозга. Митохондриальная дисфункция и нарушение ионного баланса являются одними из важнейших факторов, влияющих на активацию указанной инфламмосомы. АФК участвуют в TXNIP-опосредованной активации NLRP3 инфламмосомы, могут усиливать экспрессию NLRP3 и запускать первый этап активации путем деубиквитинирования NLRP3. Кардиолипин способен активировать NLRP3 инфламмосому, взаимодействуя напрямую или при участии АФК. Нарушение баланса ионов  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ , а также связанные с этим эффекты также ведут к активации NLRP3 инфламмосомы и усилению повреждения. В то же время митофагия, Nrf2 оказывают нейропротекторное действие, подавляя NLRP3-опосредованное воспаление при ИИ. Для уточнения роли MAM, Mfn2, SHP2 в активации NLRP3 инфламмосомы при ИИ требуются дальнейшие исследования.

Наряду с этим клинические данные демонстрируют возможность использования белковых компонентов инфламмосомы NLRP3 в качестве биомаркеров для расчета риска развития, диагностики, прогнозирования исхода и эффективности терапии ИИ.

Понимание молекулярных механизмов развития NLRP3-опосредованного воспаления может способствовать открытию новых важных терапевтических мишеней и созданию принципиально новых фармакологических агентов для профилактики и лечения ИИ.

## ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы (С.Д.К.), сбор данных (С.Д.К., Е.М.К.), обработка данных (С.Д.К., Е.М.К.), написание и редактирование манускрипта (С.Д.К., Е.М.К., Е.В.У.).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств гранта РФ «Разработка прецизионного метода прогнозирования развития геморрагической трансформации после системной тромболитической терапии ишемического инсульта путем оценки активности нейровоспаления», соглашение № 23–25–00342 от 17.01.2023 г. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Capirossi C, Laiso A, Renieri L, Capasso F, Limbucci N* (2023) Epidemiology, organization, diagnosis and treatment of acute ischemic stroke. *Eur J Radiol Open* 11: 100527. <https://doi.org/10.1016/j.ejro.2023.100527>
2. *Толпыгина СН, Чернышева МИ, Загребельный АВ, Воронина ВП, Кутишенко НП, Дмитриева НА, Лерман ОВ, Лукина ЮВ, Лукьянов ММ, Окишина ЕЮ, Парсадаян НЭ, Марцевич СЮ, Драпкина ОМ* (2023) Врачебное наблюдение и отдаленная выживаемость больных, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения, в регистре РЕГИОН-М. *Рос кардиол журн* 28: 5463. [*Tolpygina SN, Chernysheva MI, Zagrebelny AV, Voronina VP, Kutishenko NP, Dmitrieva NA, Lerman OV, Lukina YuV, Lukyanov MM, Okshina EYu, Parsadanyan NE, Martsevich SYu, Drapkina OM* (2023) Medical follow-up and long-term survival of patients with cerebrovascular accident: data from the REGION-M registry. *Ros kardiol zhurn* 28(8): 5463. (In Russ)]. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2023-5463>

3. *GBD2016 Neurology Collaborators* (2019) Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* 18: 459–480.  
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30499-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30499-X)
4. *Feigin VL, Nguyen G, Cercy K, Johnson CO, Alam T, Parmar PG, Abajobir AA, Abate KH, Abd-Allah F, Abeje AN, Abyu GY, Ademi Z, Agarwal G* (2018) Global, Regional, and Country-Specific Lifetime Risks of Stroke, 1990 and 2016. *N Engl J Med* 379: 2429–2437.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1804492>
5. *Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Chiuve SE, Cushman M, Delling FN, Deo R, de Ferranti SD, Ferguson JF* (2018) Heart disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 137: e67–e492.  
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000558>
6. *Mandalaneni K, Rayi A, Jillella DV* (2023) Stroke Reperfusion Injury. Treasure Island (FL).
7. *Feske SK* (2021) Ischemic Stroke. *Am J Med* 134: 1457–1464.  
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2021.07.027>
8. *Ma C, Liu S, Zhang S, Xu T, Yu X, Gao Y, Zhai C, Li C, Lei C, Fan S, Chen Y, Tian H, Wang Q, Cheng F, Wang X* (2018) Evidence and perspective for the role of the NLRP3 inflammasome signaling pathway in ischemic stroke and its therapeutic potential (Review). *Int J Mol Med* 42: 2979–2990.  
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3911>
9. *Woodruff TM, Thundiyil J, Tang S-C, Sobey CG, Taylor SM, Arumugam TV* (2011) Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *Mol Neurodegener* 6: 11.  
<https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-11>
10. *Van Putten MJAM, Fahlke C, Kafitz KW, Hofmeijer J, Rose CR* (2021) Dysregulation of Astrocyte Ion Homeostasis and Its Relevance for Stroke-Induced Brain Damage. *Int J Mol Sci* 22(11): 5679.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22115679>
11. *Li H-Q, Xia S-N, Xu S-Y, Liu P-Y, Gu Y, Bao X-Y, Xu Y, Cao X* (2021)  $\gamma$ -Glutamylcysteine Alleviates Ischemic Stroke-Induced Neuronal Apoptosis by Inhibiting ROS-Mediated Endoplasmic Reticulum Stress. *Oxid Med Cell Longev* 2021: 2961079.  
<https://doi.org/10.1155/2021/2961079>
12. *Pawluk H, Woźniak A, Grzešek G, Kołodziejaska R, Kozakiewicz M, Kopkowska E, Grzechowiak E, Kozera G* (2020) The Role of Selected Pro-Inflammatory Cytokines in Pathogenesis of Ischemic Stroke. *Clin Interv Aging* 15: 469–484.  
<https://doi.org/10.2147/CIA.S233909>
13. *Nian K, Harding IC, Herman IM, Ebong EE* (2020) Blood-Brain Barrier Damage in Ischemic Stroke and Its Regulation by Endothelial Mechanotransduction. *Front Physiol* 11: 605398.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.605398>
14. *Arias E, Nadkarni N, Fang R, Haynes M, Batra A, Muller W, Sullivan D* (2022) Inhibition of PECAM-1 Significantly Delays Leukocyte Extravasation into the Subcortex Post-Stroke. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 36 Suppl 1.  
<https://doi.org/10.1096/fasebj.2022.36.S1.R5646>
15. *Famakin BM* (2014) The Immune Response to Acute Focal Cerebral Ischemia and Associated Post-stroke Immunodepression: A Focused Review. *Aging Dis* 5: 307–326.  
<https://doi.org/10.14336/AD.2014.0500307>
16. *Eitelmann S, Everaerets K, Petersilie L, Rose CR, Stephan J* (2023)  $Ca^{2+}$ -dependent rapid uncoupling of astrocytes upon brief metabolic stress. *Front Cell Neurosci* 17.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1151608>
17. *Minutoli L, Puzzolo D, Rinaldi M, Irrera N, Marini H, Arcoraci V, Bitto A, Crea G, Pisani A, Squadrito F, Trichilo V, Bruschetta D, Micali A, Altavilla D* (2016) ROS-Mediated NLRP3 Inflammasome Activation in Brain, Heart, Kidney, and Testis Ischemia/Reperfusion Injury. *Oxid Med Cell Longev* 2016: 2183026.  
<https://doi.org/10.1155/2016/2183026>
18. *Hu X, De Silva TM, Chen J, Faraci FM* (2017) Cerebral Vascular Disease and Neurovascular Injury in Ischemic Stroke. *Circ Res* 120: 449–471.  
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308427>
19. *Cuartero MI, Ballesteros I, Lizasoain I, Moro MA* (2015) Complexity of the cell-cell interactions in the innate immune response after cerebral ischemia. *Brain Res* 1623: 53–62.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.04.047>
20. *Zhou W, Chen C, Chen Z, Liu L, Jiang J, Wu Z, Zhao M, Chen Y* (2018) NLRP3: A Novel Mediator in Cardiovascular Disease. *J Immunol Res* 2018: 5702103.  
<https://doi.org/10.1155/2018/5702103>

21. *Chen X, He W-T, Hu L, Li J, Fang Y, Wang X, Xu X, Wang Z, Huang K, Han J* (2016) Pyroptosis is driven by non-selective gasdermin-D pore and its morphology is different from MLKL channel-mediated necroptosis. *Cell Res* 26: 1007–1020.  
<https://doi.org/10.1038/cr.2016.100>
22. *Fann DY-W, Lee SY, Manzanero S, Tang SC, Gelderblom M, Chunduri P, Bernreuther C, Glatzel M, Cheng YL, Thundyil J, Widiapradja A, Lok KZ, Foo SL, Wang YC, Li YI, Drummond GR, Basta M, Magnus T, Jo DG, Mattson MP, Sobey CG, Arumugam TV* (2013) Intravenous immunoglobulin suppresses NLRP1 and NLRP3 inflammasome-mediated neuronal death in ischemic stroke. *Cell Death Dis* 4: e790.  
<https://doi.org/10.1038/cddis.2013.326>
23. *Martinon F, Burns K, Tschopp J* (2002) The Inflammasome: A Molecular Platform Triggering Activation of Inflammatory Caspases and Processing of proIL- $\beta$ . *Mol Cell* 10: 417–426.  
[https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00599-3](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00599-3)
24. *Swanson KV, Deng M, Ting JP-Y* (2019) The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat Rev Immunol* 19: 477–489.  
<https://doi.org/10.1038/s41577-019-0165-0>
25. *Takeuchi O, Akira S* (2010) Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 140: 805–820.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022>
26. *Janeway CAJ* (1992) The immune system evolved to discriminate infectious nonself from noninfectious self. *Immunol Today* 13: 11–16.  
[https://doi.org/10.1016/0167-5699\(92\)90198-G](https://doi.org/10.1016/0167-5699(92)90198-G)
27. *Liston A, Masters SL* (2017) Homeostasis-altering molecular processes as mechanisms of inflammasome activation. *Nat Rev Immunol* 17: 208–214.  
<https://doi.org/10.1038/nri.2016.151>
28. *Karasawa T, Takahashi M* (2017) Role of NLRP3 Inflammasomes in Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 24: 443–451.  
<https://doi.org/10.5551/jat.RV17001>
29. *Zindel J, Kubes P* (2020) DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu Rev Pathol* 15: 493–518.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032847>
30. *Gong T, Liu L, Jiang W, Zhou R* (2020) DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol* 20: 95–112.  
<https://doi.org/10.1038/s41577-019-0215-7>
31. *Feng Y-S, Tan Z-X, Wang M-M, Xing Y, Dong F, Zhang F* (2020) Inhibition of NLRP3 Inflammasome: A Prospective Target for the Treatment of Ischemic Stroke. *Front Cell Neurosci* 14: 155.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00155>
32. *Alishahi M, Farzaneh M, Ghaedrahmati F, Nejabatdoust A, Sarkaki A, Khoshnam SE* (2019) NLRP3 inflammasome in ischemic stroke: As possible therapeutic target. *Int J Stroke Off J Int Stroke Soc* 14: 574–591.  
<https://doi.org/10.1177/1747493019841242>
33. *Muñoz-Planillo R, Kuffa P, Martínez-Colón G, Smith BL, Rajendiran TM, Núñez G* (2013) K<sup>+</sup> efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter. *Immunity* 38: 1142–1153.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.05.016>
34. *Zhou R, Tardivel A, Thorens B, Choi I, Tschopp J* (2010) Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation. *Nat Immunol* 11: 136–140.  
<https://doi.org/10.1038/ni.1831>
35. *Karmakar M, Katsnelson MA, Dubyak GR, Pearlman E* (2016) Neutrophil P2X7 receptors mediate NLRP3 inflammasome-dependent IL-1 $\beta$  secretion in response to ATP. *Nat Commun* 7: 10555.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms10555>
36. *Zhang T, Ding S, Wang R* (2021) Research Progress of Mitochondrial Mechanism in NLRP3 Inflammasome Activation and Exercise Regulation of NLRP3 Inflammasome. *Int J Mol Sci* 22.  
<https://doi.org/10.3390/ijms221910866>
37. *Boutin H, LeFevre RA, Horai R, Asano M, Iwakura Y, Rothwell NJ* (2001) Role of IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in ischemic brain damage. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 21: 5528–5534.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-15-05528.2001>
38. *Ratajczak MZ, Bujko K, Cymer M, Thapa A, Adamiak M, Ratajczak J, Abdel-Latif AK, Kucia M* (2020) The Nlrp3 inflammasome as a “rising star” in studies of normal and malignant hematopoiesis. *Leukemia* 34: 1512–1523.  
<https://doi.org/10.1038/s41375-020-0827-8>
39. *Gao L, Dong Q, Song Z, Shen F, Shi J, Li Y* (2017) NLRP3 inflammasome: a promising target in ischemic stroke. *Inflamm Res* 66: 17–24.  
<https://doi.org/10.1007/s00011-016-0981-7>

40. *Gustin A, Kirchmeyer M, Koncina E, Felten P, Losciuto S, Heurtaux T, Tardivel A, Heuschling P, Dostert C* (2015) NLRP3 Inflammasome Is Expressed and Functional in Mouse Brain Microglia but Not in Astrocytes. *PLoS One* 10: e0130624.
41. *Liu H, Wu X, Luo J, Zhao L, Li X, Guo H, Bai H, Cui W, Guo W, Feng D, Qu Y* (2020) Adiponectin peptide alleviates oxidative stress and NLRP3 inflammasome activation after cerebral ischemia-reperfusion injury by regulating AMPK/GSK-3 $\beta$ . *Exp Neurol* 329: 113302. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113302>
42. *Zhao J, Piao X, Wu Y, Liang S, Han F, Liang Q, Shao S, Zhao D* (2020) Cepharanthine attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury by reducing NLRP3 inflammasome-induced inflammation and oxidative stress via inhibiting 12/15-LOX signaling. *Biomed Pharmacother* 127: 110151. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110151>
43. *Yang F, Wang Z, Wei X, Han H, Meng X, Zhang Y, Shi W, Li F, Xin T, Pang Q, Yi F* (2014) NLRP3 deficiency ameliorates neurovascular damage in experimental ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab* 34: 660–667. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.242>
44. *Gong Z, Pan J, Shen Q, Li M, Peng Y* (2018) Mitochondrial dysfunction induces NLRP3 inflammasome activation during cerebral ischemia/reperfusion injury. *J Neuroinflammat* 15: 242. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1282-6>
45. *Shi M, Chen J, Liu T, Dai W, Zhou Z, Chen L, Xie Y* (2022) Protective Effects of Remimazolam on Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Rats by Inhibiting of NLRP3 Inflammasome-Dependent Pyroptosis. *Drug Des Devel Ther* 16: 413–423. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S344240>
46. *Ye Y, Jin T, Zhang X, Zeng Z, Ye B, Wang J, Zhong Y, Xiong X, Gu L* (2019) Meisoindigo Protects Against Focal Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting NLRP3 Inflammasome Activation and Regulating Microglia/Macrophage Polarization via TLR4/NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Front Cell Neurosci* 13: 553. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00553>
47. *Hong P, Li F-X, Gu R-N, Fang Y-Y, Lai L-Y, Wang Y-W, Tao T, Xu S-Y, You Z-J, Zhang H-F* (2018) Inhibition of NLRP3 Inflammasome Ameliorates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Diabetic Mice. *Neural Plast* 2018: 9163521. <https://doi.org/10.1155/2018/9163521>
48. *Liu F, Lu J, Manaenko A, Tang J, Hu Q* (2018) Mitochondria in Ischemic Stroke: New Insight and Implications. *Aging Dis* 9: 924–937. <https://doi.org/10.14336/AD.2017.1126>
49. *Tian H, Chen X, Liao J, Yang T, Cheng S, Mei Z, Ge J* (2022) Mitochondrial quality control in stroke: From the mechanisms to therapeutic potentials. *J Cell Mol Med* 26: 1000–1012. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17189>
50. *He Z, Ning N, Zhou Q, Khoshnam SE, Farzaneh M* (2020) Mitochondria as a therapeutic target for ischemic stroke. *Free Radic Biol Med* 146: 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.11.005>
51. *Yang Y, Tian Y, Guo X, Li S, Wang W, Shi J* (2021) Ischemia Injury induces mPTP opening by reducing Sirt3. *Neuroscience* 468: 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.06.003>
52. *Carinci M, Vezzani B, Patergnani S, Ludewig P, Lessmann K, Magnus T, Casetta I, Pugliatti M, Pinton P, Giorgi C* (2021) Different Roles of Mitochondria in Cell Death and Inflammation: Focusing on Mitochondrial Quality Control in Ischemic Stroke and Reperfusion. *Biomedicines* 9(2): 169. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020169>
53. *Chen Y, Zhou Z, Min W* (2018) Mitochondria, Oxidative Stress and Innate Immunity. *Front Physiol* 9: 1487. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01487>
54. *Meyers AK, Zhu X* (2020) The NLRP3 Inflammasome: Metabolic Regulation and Contribution to Inflammation. *Cells* 9(8): 1808. <https://doi.org/10.3390/cells9081808>
55. *Subramanian N, Natarajan K, Clatworthy MR, Wang Z, Germain RN* (2013) The adaptor MAVS promotes NLRP3 mitochondrial localization and inflammasome activation. *Cell* 153: 348–361. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.054>
56. *Misawa T, Takahama M, Kozaki T, Lee H, Zou J, Saitoh T, Akira S* (2013) Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome. *Nat Immunol* 14: 454–460. <https://doi.org/10.1038/ni.2550>

57. Elliott EI, Miller AN, Banoth B, Iyer SS, Stotland A, Weiss JP, Gottlieb RA, Sutterwala FS, Casse SL (2018) Cutting Edge: Mitochondrial Assembly of the NLRP3 Inflammasome Complex Is Initiated at Priming. *J Immunol Baltim Md* 200(9): 3047–3052.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1701723>
58. Iyer SS, He Q, Janczy JR, Elliott EI, Zhong Z, Olivier AK, Sadler JJ, Knepper-Adrian V, Han R, Qiao L, Eisenbarth SC, Nauseef WM, Cassel SL, Sutterwala FS (2013) Mitochondrial cardiolipin is required for Nlrp3 inflammasome activation. *Immunity* 39: 311–323.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.08.001>
59. Turrens JF (2003) Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 552: 335–344.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>
60. Kahles T, Kohnen A, Heumueller S, Rappert A, Bechmann I, Liebner S, Wittko IM, Neumann-Haefelin T, Steinmetz H, Schroeder K, Brandes RP (2010) NADPH oxidase Nox1 contributes to ischemic injury in experimental stroke in mice. *Neurobiol Dis* 40: 185–192.  
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.05.023>
61. Heeba GH, El-Hanafy AA (2012) Nebivolol regulates eNOS and iNOS expressions and alleviates oxidative stress in cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Life Sci* 90: 388–395.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.12.001>
62. Abramov AY, Scorziello A, Duchen MR (2007) Three distinct mechanisms generate oxygen free radicals in neurons and contribute to cell death during anoxia and reoxygenation. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 27: 1129–1138.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4468-06.2007>
63. Ochoa CD, Wu RF, Terada LS (2018) ROS signaling and ER stress in cardiovascular disease. *Mol Aspects Med* 63: 18–29.  
<https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.03.002>
64. Friedman JR, Lackner LL, West M, DiBenedetto JR, Nunnari J, Voeltz GK (2011) ER tubules mark sites of mitochondrial division. *Science* 334: 358–362.  
<https://doi.org/10.1126/science.1207385>
65. Bauernfeind F, Bartok E, Rieger A, Franchi L, Núñez G, Hornung V (2011) Cutting edge: reactive oxygen species inhibitors block priming, but not activation, of the NLRP3 inflammasome. *J Immunol Baltim Md* 1950187: 613–617.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100613>
66. Paik S, Kim JK, Sihwal P, Sasakawa C, Jo E-K (2021) An update on the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol* 18: 1141–1160.  
<https://doi.org/10.1038/s41423-021-00670-3>
67. Ren J-D, Wu X-B, Jiang R, Hao D-P, Liu Y (2016) Molecular hydrogen inhibits lipopolysaccharide-triggered NLRP3 inflammasome activation in macrophages by targeting the mitochondrial reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta* 1863: 50–55.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbamer.2015.10.012>
68. Wang Y, Shi P, Chen Q, Huang Z, Zou D, Zhang J, Gao X, Lin Z (2019) Mitochondrial ROS promote macrophage pyroptosis by inducing GSDMD oxidation. *J Mol Cell Biol* 11: 1069–1082.  
<https://doi.org/10.1093/jmcb/mjz020>
69. Heid ME, Keyel PA, Kamga C, Shiva S, Watkins SC, Salter RD (2013) Mitochondrial reactive oxygen species induces NLRP3-dependent lysosomal damage and inflammasome activation. *J Immunol Baltim Md* 1950191: 5230–5238.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301490>
70. Du Y, Chen L, Qiao H, Zhang L, Yang L, Zhang P, Wang J, Zhang C, Jiang W, Xu R, Zhang X (2023) Hydrogen-Rich Saline-A Novel Neuroprotective Agent in a Mouse Model of Experimental Cerebral Ischemia via the ROS-NLRP3 Inflammasome Signaling Pathway In Vivo and In Vitro. *Brain Sci* 13(6): 939.  
<https://doi.org/10.3390/brainsci13060939>
71. Liu X, Zhang X, Ding Y, Zhou W, Tao L, Lu P, Wang Y, Hu R (2017) Nuclear Factor E2-Related Factor-2 Negatively Regulates NLRP3 Inflammasome Activity by Inhibiting Reactive Oxygen Species-Induced NLRP3 Priming. *Antioxid Redox Signal* 26: 28–43.  
<https://doi.org/10.1089/ars.2015.6615>
72. Juliana C, Fernandes-Alnemri T, Kang S, Farias A, Qin F, Alnemri ES (2012) Non-transcriptional priming and deubiquitination regulate NLRP3 inflammasome activation. *J Biol Chem* 287: 36617–36622.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.407130>
73. Peng J, Wang H, Gong Z, Li X, He L, Shen Q, Pan J, Peng Y (2020) Idebenone attenuates cerebral inflammatory injury in ischemia and reperfusion via dampening NLRP3 inflammasome activity. *Mol Immunol* 123: 74–87.  
<https://doi.org/10.1016/j.molimm.2020.04.013>

74. Luo T, Zhou X, Qin M, Lin Y, Lin J, Chen G, Liu A, Ouyang D, Chen D, Pan H (2022) Corilagin Restrains NLRP3 Inflammasome Activation and Pyroptosis through the ROS/TXNIP/NLRP3 Pathway to Prevent Inflammation. *Oxid Med Cell Longev* 2022: 1652244. <https://doi.org/10.1155/2022/1652244>
75. Chen D, Dixon BJ, Doycheva DM, Li B, Zhang Y, Hu Q, He Y, Guo Z, Nowrangi D, Flores J, Filippov V, Zhang JH, Tang J (2018) IRE1 $\alpha$  inhibition decreased TXNIP/NLRP3 inflammasome activation through miR-17-5p after neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rats. *J Neuroinflammation* 15: 32. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1077-9>
76. Yao Y, Hu S, Zhang C, Zhou Q, Wang H, Yang Y, Liu C, Ding H (2022) Ginsenoside Rd attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury by exerting an anti-pyroptotic effect via the miR-139-5p/FoxO1/Keap1/Nrf2 axis. *Int Immunopharmacol* 105: 108582. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108582>
77. Cao G, Jiang N, Hu Y, Zhang Y, Wang G, Yin M, Ma X, Zhou K, Qi J, Yu B, Kou J (2016) Ruscogenin Attenuates Cerebral Ischemia-Induced Blood-Brain Barrier Dysfunction by Suppressing TXNIP/NLRP3 Inflammasome Activation and the MAPK Pathway. *Int J Mol Sci* 17. <https://doi.org/10.3390/ijms17091418>
78. Liu T, Wang W, Liu M, Ma Y, Mu F, Feng X, Zhang Y, Guo C, Ding Y, Wen A (2020) Z-Guggulsterone alleviated oxidative stress and inflammation through inhibiting the TXNIP/NLRP3 axis in ischemic stroke. *Int Immunopharmacol* 89: 107094. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107094>
79. Arias-Cartin R, Grimaldi S, Arnoux P, Guigliarelli B, Magalon A (2012) Cardiolipin binding in bacterial respiratory complexes: structural and functional implications. *Biochim Biophys Acta* 1817: 1937–1949. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2012.04.005>
80. Ji J, Baart S, Vikulina AS, Clark RS, Anthonymuthu TS, Tyurin VA, Du L, St Croix CM, Tyurina YY, Lewis J, Skoda EM, Kline AE, Kochanek PM, Wipf P, Kagan VE, Bayur H (2015) Deciphering of mitochondrial cardiolipin oxidative signaling in cerebral ischemia-reperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab* 35: 319–328. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.204>
81. Szeto HH, Liu S, Soong Y, Seshan SV, Cohen-Gould L, Manichev V, Feldman LC, Gustafsson T (2017) Mitochondria Protection after Acute Ischemia Prevents Prolonged Upregulation of IL-1 $\beta$  and IL-18 and Arrests CKD. *J Am Soc Nephrol JASN* 28: 1437–1449. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016070761>
82. Yabal M, Calleja DJ, Simpson DS, Lawlor KE (2019) Stressing out the mitochondria: Mechanistic insights into NLRP3 inflammasome activation. *J Leukoc Biol* 105: 377–399. <https://doi.org/10.1002/JLB.MR0318-124R>
83. Gómez-Suaga P, Bravo-San Pedro JM, González-Polo RA, Fuentes JM, Niso-Santano M (2018) ER-mitochondria signaling in Parkinson's disease. *Cell Death Dis* 9: 337. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0079-3>
84. Bravo R, Vicencio JM, Parra V, Troncoso R, Munoz JP, Bui M, Quiroga C, Rodriguez AE, Verdejo HE, Ferreira J, Iglewski M, Chiong M, Simmen T, Zorzano A, Hill JA, Rothermel BA, Szabadkai G, Lavadero S (2011) Increased ER-mitochondrial coupling promotes mitochondrial respiration and bioenergetics during early phases of ER stress. *J Cell Sci* 124: 2143–2152. <https://doi.org/10.1242/jcs.080762>
85. Zhou R, Yazdi AS, Menu P, Tschopp J (2011) A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature* 469: 221–225. <https://doi.org/10.1038/nature09663>
86. Spescha RD, Klohs J, Semerano A, Giacalone G, Derungs RS, Reiner MF, Rodriguez Gutierrez D, Mendez-Carmona N, Glanzmann M, Savarese G, Kränkel N, Akhmedov A, Keller S, Mocharla P, Kaufmann MR, Wenger RH, Vogel J, Kulic L, Nitsch RM, Beer JH, Peruzzotti-Jametti L, Sessa M, Lüscher TF, Camici GG (2015) Post-ischaemic silencing of p66Shc reduces ischaemia/reperfusion brain injury and its expression correlates to clinical outcome in stroke. *Eur Heart J* 36: 1590–1600. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv140>
87. Zhang X, Yan H, Yuan Y, Gao J, Shen Z, Cheng Y, Shen Y, Wang R-R, Wang X, Hu W-W, Wang G, Chen Z (2013) Cerebral ischemia-reperfusion-induced autophagy protects against neuronal injury by mitochondrial clearance. *Autophagy* 9: 1321–1333. <https://doi.org/10.4161/auto.25132>
88. He Q, Li Z, Meng C, Wu J, Zhao Y, Zhao J (2019) Parkin-Dependent Mitophagy Is Required for the Inhibition of ATF4 on NLRP3 Inflammasome Activation in Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Cells* 8(8): 897. <https://doi.org/10.3390/cells8080897>

89. *Su S-H, Wu Y-F, Lin Q, Wang D-P, Hai J* (2019) URB597 protects against NLRP3 inflammasome activation by inhibiting autophagy dysfunction in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *J Neuroinflammation* 16: 260.  
<https://doi.org/10.1186/s12974-019-1668-0>
90. *Zou X, Xie L, Wang W, Zhao G, Tian X, Chen M* (2020) FK866 alleviates cerebral pyroptosis and inflammation mediated by Drp1 in a rat cardiopulmonary resuscitation model. *Int Immunopharmacol* 89: 107032.  
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107032>
91. *Ichinohe T, Yamazaki T, Koshiba T, Yanagi Y* (2013) Mitochondrial protein mitofusin 2 is required for NLRP3 inflammasome activation after RNA virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(44): 17963–17968.  
<https://doi.org/10.1073/PNAS.1312571110>
92. *Nguyen T, Nioi P, Pickett CB* (2009) The Nrf2-Antioxidant Response Element Signaling Pathway and Its Activation by Oxidative Stress. *J Biol Chem* 284: 13291.  
<https://doi.org/10.1074/JBC.R900010200>
93. *Anandhan A, Nguyen N, Syal A, Dreher LA, Dodson M, Zhang DD, Madhavan L* (2021) NRF2 Loss Accentuates Parkinsonian Pathology and Behavioral Dysfunction in Human  $\alpha$ -Synuclein Overexpressing Mice. *Aging Dis* 12: 964–982.  
<https://doi.org/10.14336/AD.2021.0511>
94. *Xu X, Zhang L, Ye X, Hao Q, Zhang T, Cui G, Yu M* (2018) Nrf2/ARE pathway inhibits ROS-induced NLRP3 inflammasome activation in BV2 cells after cerebral ischemia reperfusion. *Inflamm Res* 67: 57–65.  
<https://doi.org/10.1007/s00011-017-1095-6>
95. *Yu J, Wang W-N, Matei N, Li X, Pang J-W, Mo J, Chen S-P, Tang J-P, Yan M, Zhang JH* (2020) Ezetimibe Attenuates Oxidative Stress and Neuroinflammation via the AMPK/Nrf2/TXNIP Pathway after MCAO in Rats. *Oxid Med Cell Longev* 2020: 4717258.  
<https://doi.org/10.1155/2020/4717258>
96. *Hou Y, Wang Y, He Q, Li L, Xie H, Zhao Y, Zhao J* (2018) Nrf2 inhibits NLRP3 inflammasome activation through regulating Trx1/TXNIP complex in cerebral ischemia reperfusion injury. *Behav Brain Res* 336: 32–39.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.06.027>
97. *Aoki Y, Huang Z, Thomas SS, Bhide PG, Huang I, Moskowitz MA, Reeves SA* (2000) Increased susceptibility to ischemia-induced brain damage in transgenic mice overexpressing a dominant negative form of SHP2. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 14: 1965–1973.  
<https://doi.org/10.1096/fj.00-0105com>
98. *Guo W, Liu W, Chen Z, Gu Y, Peng S, Shen L, Shen Y, Wang X, Feng G-S, Sun Y, Xu Q* (2017) Tyrosine phosphatase SHP2 negatively regulates NLRP3 inflammasome activation via ANTI-dependent mitochondrial homeostasis. *Nat Commun* 8: 2168.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-02351-0>
99. *Schäfer MKE, Pfeiffer A, Jaeckel M, Pouya A, Dolga AM, Methner A* (2014) Regulators of mitochondrial  $Ca^{2+}$  homeostasis in cerebral ischemia. *Cell Tissue Res* 357: 395–405.  
<https://doi.org/10.1007/s00441-014-1807-y>
100. *Kinnally KW, Peixoto PM, Ryu S-Y, Dejean LM* (2011) Is mPTP the gatekeeper for necrosis, apoptosis, or both? *Biochim Biophys Acta* 1813: 616–622.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.09.013>
101. *Missirolari S, Patergnani S, Caroccia N, Pedriali G, Perrone M, Prevati M, Wieckowski MR, Giorgi C* (2018) Mitochondria-associated membranes (MAMs) and inflammation. *Cell Death Dis* 9: 329.  
<https://doi.org/10.1038/s41419-017-0027-2>
102. *Korff S, Riechert N, Schoensiegel F, Weichenhan D, Autschbach F, Katus HA, Ivandic BT* (2006) Calcification of myocardial necrosis is common in mice. *Virchows Arch Int J Pathol* 448: 630–638.  
<https://doi.org/10.1007/s00428-005-0071-7>
103. *Rossol M, Pierer M, Raulien N, Quandt D, Meusch U, Rothe K, Schubert K, Schöneberg T, Schaefer M, Krügel U, Smajilovic S, Bräuner-Osborne H, Baerwald C, Wagner U* (2012) Extracellular  $Ca^{2+}$  is a danger signal activating the NLRP3 inflammasome through G protein-coupled calcium sensing receptors. *Nat Commun* 3: 1329.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms2339>
104. *Lee G-S, Subramanian N, Kim AI, Akseptijevich I, Goldbach-Mansky R, Sacks DB, Germain RN, Kastner DL, Chae JJ* (2012) The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through  $Ca^{2+}$  and cAMP. *Nature* 492: 123–127.  
<https://doi.org/10.1038/nature11588>

105. Wang C, Jia Q, Sun C, Jing C (2020) Calcium sensing receptor contribute to early brain injury through the CaMKII/NLRP3 pathway after subarachnoid hemorrhage in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 530: 651–657.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.07.081>
106. Pan T, Zhu Q-J, Xu L-X, Ding X, Li J-Q, Sun B, Hua J, Feng X (2020) Knocking down TRPM2 expression reduces cell injury and NLRP3 inflammasome activation in PC12 cells subjected to oxygen-glucose deprivation. *Neural Regen Res* 15: 2154–2161.  
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.282271>
107. Triantafilou K, Hughes TR, Triantafilou M, Morgan BP (2013) The complement membrane attacks complex triggers intracellular Ca<sup>2+</sup> fluxes leading to NLRP3 inflammasome activation. *J Cell Sci* 126: 2903–2913.  
<https://doi.org/10.1242/jcs.124388>
108. Chang Y-Y, Jean W-H, Lu C-W, Shieh J-S, Chen M-L, Lin T-Y (2020) Nicardipine Inhibits Priming of the NLRP3 Inflammasome via Suppressing LPS-Induced TLR4 Expression. *Inflammation* 43: 1375–1386.  
<https://doi.org/10.1007/s10753-020-01215-y>
109. Ismael S, Patrick D, Salman Mohd, Parveen A, Stanfill AG, Ishrat T (2022) Verapamil inhibits TXNIP-NLRP3 inflammasome activation and preserves functional recovery after intracerebral hemorrhage in mice. *Neurochem Int* 161: 105423.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2022.105423>
110. Yu SP (2003) Regulation and critical role of potassium homeostasis in apoptosis. *Prog Neurobiol* 70: 363–386.  
[https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(03\)00090-x](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(03)00090-x)
111. Song M, Yu SP (2014) Ionic regulation of cell volume changes and cell death after ischemic stroke. *Transl Stroke Res* 5: 17–27.  
<https://doi.org/10.1007/s12975-013-0314-x>
112. Tapia-Abellán A, Angosto-Bazarra D, Alarcón-Vila C, Baños MC, Hafner-Bratkovič I, Oliva B, Pelegrín P (2021) Sensing low intracellular potassium by NLRP3 results in a stable open structure that promotes inflammasome activation. *Sci Adv* 7: eabf4468.  
<https://doi.org/10.1126/sciadv.abf4468>
113. Pétrilli V, Papin S, Dostert C, Mayor A, Martinon F, Tschopp J (2007) Activation of the NALP3 inflammasome is triggered by low intracellular potassium concentration. *Cell Death Differ* 14: 1583–1589.  
<https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402195>
114. Silverman WR, de Rivero Vaccari JP, Locovei S, Qiu F, Carlsson SK, Scemes E, Keane RW, Dahl G (2009) The pannexin 1 channel activates the inflammasome in neurons and astrocytes. *J Biol Chem* 284: 18143–18151.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M109.004804>
115. Purohit R, Bera AK (2021) Pannexin 1 plays a pro-survival role by attenuating P2X7 receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> influx. *Cell Calcium* 99: 102458.  
<https://doi.org/10.1016/j.ceca.2021.102458>
116. Gulbransen BD, Bashashati M, Hirota SA, Gui X, Roberts JA, MacDonald JA, Muruve DA, McKay DM, Beck PL, Mawe GM, Thompson RJ, Sharkey KA (2012) Activation of neuronal P2X7 receptor-pannexin-1 mediates death of enteric neurons during colitis. *Nat Med* 18: 600–604.  
<https://doi.org/10.1038/nm.2679>
117. Bhattacharya A, Jones DNC (2018) Emerging role of the P2X7-NLRP3-IL1β pathway in mood disorders. *Psychoneuroendocrinology* 98: 95–100.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.08.015>
118. Butt AM (2011) ATP: a ubiquitous gliotransmitter integrating neuron-glia networks. *Semin Cell Dev Biol* 22: 205–213.  
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2011.02.023>
119. Illes P, Verkhatsky A, Burnstock G, Franke H (2012) P2X receptors and their roles in astroglia in the central and peripheral nervous system. *Neurosci Rev J Bringing Neurobiol Neurol Psychiatry* 18: 422–438.  
<https://doi.org/10.1177/1073858411418524>
120. Schädlich IS, Winzer R, Stabernack J, Tolosa E, Magnus T, Rissiek B (2023) The role of the ATP-adenosine axis in ischemic stroke. *Semin Immunopathol* 45: 347–365.  
<https://doi.org/10.1007/s00281-023-00987-3>
121. Di Virgilio F, Dal Ben D, Sarti AC, Giuliani AL, Falzoni S (2017) The P2X7 Receptor in Infection and Inflammation. *Immunity* 47: 15–31.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.020>

122. *Ye X, Shen T, Hu J, Zhang L, Zhang Y, Bao L, Cui C, Jin G, Zan K, Zhang Z, Yang X, Shi H, Zu J, Yu M, Song C, Wang Y, Qi S, Cui G* (2017) Purinergic 2X7 receptor/NLRP3 pathway triggers neuronal apoptosis after ischemic stroke in the mouse. *Exp Neurol* 292: 46–55.  
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.03.002>
123. *Liang J, Han R, Zhou B* (2021) Metabolic Reprogramming: Strategy for Ischemic Stroke Treatment by Ischemic Preconditioning. *Biology* 10(5): 424.  
<https://doi.org/10.3390/biology10050424>
124. *Hu H-J, Song M* (2017) Disrupted Ionic Homeostasis in Ischemic Stroke and New Therapeutic Targets. *J Stroke Cerebrovasc Dis Off J Natl Stroke Assoc* 26: 2706–2719.  
<https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.09.011>
125. *Edye ME, Lopez-Castejon G, Allan SM, Brough D* (2013) Acidosis drives damage-associated molecular pattern (DAMP)-induced interleukin-1 secretion via a caspase-1-independent pathway. *J Biol Chem* 288: 30485–30494.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.478941>
126. *Rajamäki K, Nordström T, Nurmi K, Åkerman KE, Kovanen PT, Öörni K, Eklund KK* (2013) Extracellular Acidosis Is a Novel Danger Signal Alerting Innate Immunity via the NLRP3 Inflammasome. *J Biol Chem* 288: 13410–13419.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.426254>
127. *Xiong Z-G, Zhu X-M, Chu X-P, Minami M, Hey J, Wei W-L, MacDonald JF, Wemmie JA, Price MP, Welsh MJ, Simon RP* (2004) Neuroprotection in ischemia: blocking calcium-permeable acid-sensing ion channels. *Cell* 118: 687–698.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.08.026>
128. *Alvarez de la Rosa D, Krueger SR, Kolar A, Shao D, Fitzsimonds RM, Canessa CM* (2003) Distribution, subcellular localization and ontogeny of ASIC1 in the mammalian central nervous system. *J Physiol* 546: 77–87.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.030692>
129. *Pignataro G, Simon RP, Xiong Z-G* (2007) Prolonged activation of ASIC1a and the time window for neuroprotection in cerebral ischaemia. *Brain J Neurol* 130: 151–158.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awl325>
130. *Li M, Inoue K, Branigan D, Kratzer E, Hansen JC, Chen JW, Simon RP, Xiong Z-G* (2010) Acid-sensing ion channels in acidosis-induced injury of human brain neurons. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab* 30: 1247–1260.  
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.30>
131. *De Rivero Vaccari JP, Cyr B* (2023) Chapter 18 – The inflammasome in stroke. *Inflammasome Biology*. Academ Press. 275–290.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91802-2.00030-X>
132. *Lv J, Jiang X, Zhang J, Peng X, Lin H* (2020) Combined polymorphisms in genes encoding the inflammasome components NLRP3 and CARD8 confer risk of ischemic stroke in men. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 29: 104874.  
<https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104874>
133. *Kerr N, García-Contreras M, Abbassi S, Mejias NH, Desousa BR, Ricordi C, Dietrich WD, Keane RW, de Rivero Vaccari JP* (2018) Inflammasome Proteins in Serum and Serum-Derived Extracellular Vesicles as Biomarkers of Stroke. *Front Mol Neurosci* 11: 309.  
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00309>
134. *Lu D, Hu M, Zhang B, Lin Y, Zhu Q, Men X, Lu Z, Cai W* (2021) Temporal and Spatial Dynamics of Inflammasome Activation After Ischemic Stroke. *Front Neurol* 12: 621555.  
<https://doi.org/10.3389/fneur.2021.621555>
135. *Chen SH, Scott XO, Ferrer Marcelo Y, Almeida VW, Blackwelder PL, Yavagal DR, Peterson EC, Starke RM, Dietrich WD, Keane RW, de Rivero Vaccari JP* (2021) Netosis and Inflammasomes in Large Vessel Occlusion Thrombi. *Front Pharmacol* 11: 607287.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.607287>

---

## The Role of NLRP3 Inflammasome in the Pathogenesis of Ischemic Stroke

S. D. Kazakov<sup>a,\*</sup>, E. M. Kamenskih<sup>a</sup>, and E. V. Udut<sup>a</sup>

*<sup>a</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia*

*\*e-mail: docstastomsk@gmail.com*

Ischemic stroke (IS) is a prevalent condition with high mortality and disability risks worldwide. As of now, the issue of pathogenetic therapy remains unresolved due to the limited effectiveness and safety of reperfusion measures. Recent research has elucidated that neuroinflammation plays a pivotal role in IS development and may serve as a therapeutic target. The NLRP3 inflammasome emerges as a key mediator orchestrating post-ischemic inflammatory reactions through the activation of caspase-1, which cleaves pro-interleukin-1 beta and -18 precursors into active proinflammatory cytokines released into the extracellular milieu. This review presents insights into the structure and activation process of the NLRP3 inflammasome in IS. Factors and mechanisms contributing to both its activation and inhibition are delineated.

*Keywords:* stroke, ischemia, neuroinflammation, immunity, inflammasome