

# ИНГИБИРОВАНИЕ TLR4 И NLRP3-РЕЦЕПТОРОВ УСИЛИВАЕТ ПРОДУКЦИЮ АЛЛЕРГЕН- СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgE-АНТИТЕЛ В МОДЕЛЯХ АЛЛЕРГИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОДКОЖНОГО И ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ АНТИГЕНА СООТВЕТСТВЕННО

Чудаков Д.Б., Шустова О.А., Коновалова М.В., Величинский Р.А.,  
Фаттахова Г.В.

ФГБУН «Государственный научный центр “Институт биоорганической химии имени академиков  
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова”» Российской академии наук, Москва, Россия

**Резюме.** В настоящее время наблюдается повсеместный рост распространенности заболеваний, связанных с продукцией IgE в ответ на попадание в организм безвредных аллергенов. Однако вопрос о роли активации PRR-рецепторов в формировании продукции аллерген-специфических антител еще остается дискуссионным. Существует так называемая гигиеническая гипотеза, согласно которой причиной развития аллергических заболеваний является уменьшение контакта современных людей с различными патогенами, содержащими лиганды PRR-рецепторов. Целью настоящей работы было определить роль активации TLR4 и NLRP3-рецепторов в формировании продукции аллерген-специфических антител.

Мыши линии BALB/c были иммунизированы двумя способами: 1) подкожно в течение 6 недель 2–3 раза в неделю дозой OVA 0,1 мкг; 2) интраназально в течение 8 недель 2 раза в неделю дозой OVA 0,3 мкг с бензо(а)пиреном (BaP) в дозе 4 нг. В обоих случаях части животным вводили низкомолекулярные ингибиторы TLR4 и NLRP3 – TLR4-IN-C34 в дозе 1 мг/кг и CY-09 в дозе 20 мг/кг соответственно. Продукцию специфических антител определяли методом ИФА по окончании протокола.

Введение TLR4-IN-C34 достоверно ( $p < 0,01$ ) и примерно в 2,5 раза усиливало продукцию специфического IgE, но не IgG1, в модели с использованием подкожной иммунизации. Титры специфического IgE в контрольной группе без ингибитора и в опытной группе с TLR4-IN-C34 составили,

## Адрес для переписки:

Чудаков Дмитрий Борисович  
ФГБУН «Государственный научный центр  
“Институт биоорганической химии имени академиков  
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова”» Российской  
академии наук  
117997, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.  
Тел./факс: 8 (495) 330-40-11.  
E-mail: boris-chudakov@yandex.ru

## Address for correspondence:

Dmitrii B. Chudakov  
Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,  
Russian Academy of Sciences  
16/10 Miklukho-Maklay St  
Moscow  
117997 Russian Federation  
Phone/fax: +7 (495) 330-40-11.  
E-mail: boris-chudakov@yandex.ru

## Образец цитирования:

Д.Б. Чудаков, О.А. Шустова, М.В. Коновалова,  
Р.А. Величинский, Г.В. Фаттахова «Ингибирование  
TLR4 и NLRP3 рецепторов усиливает продукцию  
аллерген-специфических IgE-антител в моделях  
аллергии с использованием подкожного и  
интраназального введения антигена соответственно»  
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,  
№ 2. С. 219–226.  
doi: 10.46235/1028-7221-16617-IOT

© Чудаков Д.Б. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

D.B. Chudakov, O.A. Shustova, M.V. Konovalova,  
R.A. Velichinskii, G.V. Fattakhova “Inhibition of TLR4 and  
NLRP3 leads to the exacerbation of IgE specific antibodies  
in mouse allergic models based on subcutaneous or intranasal  
immunization respectively”, Russian Journal of Immunology/  
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 2,  
pp. 219–226.  
doi: 10.46235/1028-7221-16617-IOT

© Chudakov D.B. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16617-IOT

соответственно,  $(3 \pm 0,6) \times 10^3$  и  $(8 \pm 2) \times 10^3$ . Введение CY-09 не оказывало влияния на гуморальный ответ в данной модели. Противоположная ситуация наблюдалась в случае интраназальной иммунизации с BaP. BaP достоверно стимулировал формирование продукции специфического IgE и IgG1. В данной модели введение CY-09, но не TLR4-IN-C34 на фоне введения BaP, достоверно ( $p < 0,05$ ) и примерно в 2 раза повышало продукцию специфического IgE, но не влияло на продукцию IgG1. Титры специфического IgE в контрольной группе без ингибитора и в опытной составили  $(2,0 \pm 0,4) \times 10^2$  и  $(5,1 \pm 0,3) \times 10^2$ .

Таким образом, активация PRR, TLR4 и NLRP3 в модели с использованием подкожной иммунизации и в модели с использованием интраназального введения антигена с BaP подавляла продукцию аллерген-специфического IgE, но не IgG1 антител. Полученные данные в целом находятся в согласии с гигиенической гипотезой формирования аллергопатологий.

*Ключевые слова: IgE, TLR4, NLRP3, бензо(а)пирен, низкомолекулярные фармакологические ингибиторы, модель аллергии на мышах*

## INHIBITION OF TLR4 AND NLRP3 LEADS TO THE EXACERBATION OF IgE SPECIFIC ANTIBODIES IN MOUSE ALLERGIC MODELS BASED ON SUBCUTANEOUS OR INTRANASAL IMMUNIZATION RESPECTIVELY

Chudakov D.B., Shustova O.A., Konovalova M.V., Velichinskii R.A., Fattakhova G.V.

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

**Abstract.** A significant increase in the prevalence of diseases linked with IgE production can be seen in recent years, but the question about the role of TLR receptors in this process remains controversial. According to the hygiene hypothesis, the decrease of the contact of the individual with pathogens that contain PRR receptor ligands in the recent years leads to the development of allergic diseases. The aim of this work was to investigate whether TLR4 and NLRP3 receptor activation contributes to allergen-specific antibody formation.

BALB/c mice were immunized according to two different protocols. In the first one, OVA antigen was administered in 0.1  $\mu\text{g}$  dose 2–3 times a week for 6 weeks by subcutaneous route. In the second one, OVA was administered in 0.3  $\mu\text{g}$  dose intranasally in combination with 4 ng of benzo(a)pyrene (BaP) 2 times a week for 8 weeks. In both cases, TLR4 and NLRP3 receptor inhibitors, namely TLR4-IN-C34 in 1 mg/kg dose and CY-09 in 20 mg/kg dose respectively were also administered to the some of the mice. Specific antibody production was determined by ELISA.

Immunization of mice with TLR4-IN-C34 significantly ( $p < 0.01$ ) amplify IgE production (about 2.5 times in comparison with control group), but has no effect on specific IgG1 production in subcutaneous model. Specific IgE titers in the control group immunized without small molecule inhibitor and in the TLR4-IN-C34 group were  $(3 \pm 0.6) \times 10^3$  and  $(8 \pm 2) \times 10^3$ , respectively. In this model, CY-09 administration has no effect on humoral immune response. In the secondary (intranasal) model, BaP significantly increase specific IgE and IgG1 production. CY-09 but not TLR4-IN-C34 administered in combination with BaP significant ( $p < 0.05$ ) and approximately 2 times enhances specific IgE but not IgG1 production. Specific IgE titers in the control group without inhibitor and in the CY-09 group were  $(2.0 \pm 0.4) \times 10^2$  and  $(5.1 \pm 0.3) \times 10^2$ , respectively.

So, PRR-activation, in our case activation of TLR4 in the model based on subcutaneous immunization or NLRP3 in the model based on intranasal antigen administration with BaP suppressed the production of allergen-specific IgE, but not IgG1. These data are in consistent with the hygiene theory of allergy development.

*Keywords: IgE, TLR4, NLRP3, benzo(a)pyrene, small molecule inhibitors, mouse allergy model*

Исследование выполнено при поддержке проекта РНФ № 23-25-10044 и бюджета города Москвы.

## Введение

Стремительный рост частоты встречаемости патологий, связанных с продукцией IgE на безвредные антигены, является одним из вызовов, стоящих перед современной медициной [2]. Одной из главных гипотез, объясняющих рост встречаемости патологий данного рода, является так называемая «гигиеническая гипотеза». Согласно данной гипотезе при уменьшении частоты встреч организма с бактериальными и вирусными патогенами, при уменьшении разнообразия антигенов, с которым организм сталкивается в течение жизни, в том числе антигенов, активирующих PRR-рецепторы, происходит смещение равновесия иммунологических реакций в сторону 2-го типа иммунного ответа [14]. Таким образом, организм начинает «неправильно» реагировать на безвредные антигены, чем-то отдаленно похожие на антигены потенциально опасных патогенов. Вместо ответа на потенциально опасные патогены по механизму 1-го типа иммунного ответа, запускаются реакции на безвредные белки преимущественно по механизму 2-го типа иммунного ответа [15]. Интересно, что некоторые белковые аллергены, несмотря на то, что не содержат в своем составе классических агонистов TLR, способны их активировать. В качестве примера можно привести аллерген клещей домашней пыли Der f2, способный активировать TLR4 [12]. В классическом модельном аллергене овальбумине (OVA) примести, являющиеся классическими агонистами TLR (LPS) и активирующие TLR4 [13].

В то же время роль активации TLR в патогенезе продукции аллерген-специфических антител и локального аллергического воспаления не однозначна. Достаточно большое количество работ указывает на то, что активация TLR, в частности TLR4, служит одним из триггеров локального аллергического воспаления [1]. В то же время существуют работы, согласно которым блокирование TLR4 ухудшает общую клиническую картину воспаления (в частности усиливает локальное накопление эозинофилов в ткани легких) [9].

Еще одним PRR, с которым часто связывают формирование локального аллергического воспаления, является NLRP3 инфламасома. Роль этого внутриклеточного PRR в формировании аллергического воспаления показана во многих работах [3]. Обычно к активации NLRP3 приводят изменение концентрации внутриклеточных ионов  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$ ; активные формы кислорода (АФК); дестабилизация мембран лизосом с выходом содержимого в цитоплазму, например,

под действием кристаллов мочевой кислоты, холестерина, фосфата кальция, частиц асбеста или кремнезема [3, 4]. В то же время существует и другая точка зрения, согласно которой NLRP3-инфламасома не влияет на формирование аллергического воспаления, по крайней мере адаптивного аллергического иммунного ответа [8].

**Целью настоящей работы** было показать роль TLR4-рецептора и NLRP3-инфламасомы в формировании продукции аллерген-специфических антител в двух моделях аллергии с использованием специфических низкомолекулярных ингибиторов этих рецепторов — TLR4-IN-C34 и CY-09 соответственно. В первой модели аллергического гуморального ответа животным вводили модельный аллерген OVA интраназально с аэрополлютантом бензо(а)пиреном (BaP). Во второй модели использовали подкожную иммунизацию в область холки без дополнительных стимулов, как описано нами в работе [7].

## Материалы и методы

### Иммунизация и забор образцов

Мыши линии BALB/c, самки, в возрасте 6-7 недель были приобретены в Научном центре биомедицинских технологий (Андреевка, Россия). Животные содержались в клетках с использованием опилок в качестве подстилки и доступом к воде и корму *ad libitum* при 12-часовом цикле свет-темнота. Все эксперименты на животных были одобрены Институциональным комитетом по содержанию и использованию животных (IACUC) Института биоорганической химии имени Шемякина и Овчинникова РАН (протокол № 147/2021).

В качестве модельного антигена использовался коммерческий белок овальбумин (OVA) (Sigma-Aldrich, Дармштадт, Германия), содержащий в своем составе не более 0,04 EU LPS на 10 мкг белка по результатам LAL-теста.

В работе использовались две модели аллергии. В первой модели животные были иммунизированы подкожно в область холки. Модельный антиген овальбумин (OVA) вводился в дозе 0,1 мкг в физиологическом растворе объемом 0,1 мл. Введение осуществлялось 3 раза в неделю первые 2 недели и по 2 раза в неделю в последующие. Во второй модели иммунизация проводилась интраназально. OVA вводился в дозе 0,3 мкг в физиологическом растворе в объеме 50 мкл. Введение осуществлялось 2 раза в неделю в течение 8 недель. Вместе с OVA части животным вводился аэрополлютант BaP в дозе 4 нг. Для оценки роли активации TLR4 и NLRP3 в формировании гуморального ответа на вводимый аллерген части животным опытных групп вводили ингибиторы этих рецепторов — TLR4-IN-C34 [6] в дозе

1 мг/кг и СУ-09 [15] в дозе 20 мг/кг соответственно. В качестве отрицательного контроля служили интактные животные, а также животные, иммунизированные носителем (физиологическим раствором).

Забор крови для оценки уровня продукции специфических антител проводился из подглазничного синуса. Образцы крови инкубировали при +37 °С 20 минут до образования тромба, который затем отделялся от сыворотки центрифугированием при 600 g. Сыворотки хранили при -20 °С до момента использования.

#### Постановка иммуноферментного анализа (ИФА)

В лунки 96-луночного планшета (Costar, MaxiSorb) наносили 50 мкл раствора OVA в PBS pH = 7,2 и оставляли инкубироваться на 18 часов при +4 °С. При постановке ИФА на определение специфического IgE использовали раствор с концентрацией белка 20 мкг/мл, а при постановке на специфический IgG1 – 5 мкг/мл. Между стадиями проводили трехкратную отмывку раствором Твин-20 0,05% в PBS. Блокирование осуществляли раствором бычьего сывороточного альбумина (BSA) объемом 100 мкл в PBS концентрации 5% при определении специфического IgE, или 1% при определении специфического IgG1. Инкубацию с блокирующим буфером осуществляли в течение часа. Затем в лунки наносились сыворотки в различном разведении в соответствующем блокирующем буфере. Инкубацию с сыворотками осуществляли на ночь при +4 °С. Далее наносились коммерческие конъюгаты антител. При определении специфических IgE использовали анти-мышинные IgE, меченые пероксидазой хрена (ПХ) (клон 23G3, Abcam, Великобритания) в разведении 1:2000 и инкубировали в течение 3 часов. Для определения специфического IgG1 использовали меченые биотином антитела (клон RMG1-1, BioLegend, США) в разведении 1:5000. В качестве вторичного конъюгата в последнем случае добавляли на завершающей стадии конъюгат ПХ со стрептавидином (BioLegend, США) в разведении 1:7000. Проявление реакции осуществляли с использованием субстрата на основе 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) в присутствии 4 mM перекиси водорода. Оптическая плотность измерялась с помощью автоматического спектрофотометра (Thermo Fisher Scientific, США), на длине волны 450 нм за вычетом оптической плотности при 620 нм как фоновой. За титр сыворотки принималось наибольшее ее разведение, при котором оптическая плотность согласно титровочной кривой превышала фоновую на 3 стандартных отклонения последней.

#### Статистика

Все результаты представлены в виде средних значений и соответствующих величин стандарт-

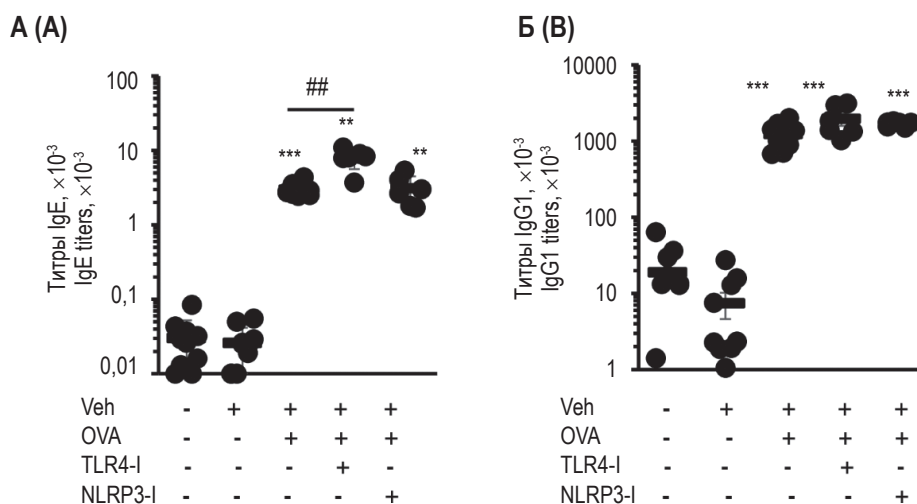
ного отклонения. Статистическую значимость различий между группами определяли с использованием теста ANOVA с поправкой на множественное сравнение по методу Sidak. Значения  $p$  по данному тесту, эквивалентные  $p < 0,05$  с поправкой на множественное сравнение, считали статистически достоверными.

## Результаты и обсуждение

Для того чтобы выяснить роль TLR4 и NLRP3 PRR-рецепторов в формировании аллергенспецифического гуморального ответа, в данной работе использовали низкомолекулярные фармакологические ингибиторы. Для изучения роли TLR4 использовали ингибитор TLR4-IN-C34 [6], а для изучения роли NLRP3 – ингибитор СУ-09 [15].

Введение антигена животным в модели подкожной иммунизации в область холки достоверно стимулировала у последних продукцию специфических антител классов IgE и IgG1, как было показано нами ранее [7] (рис. 1). Дополнительное введение вместе с антигеном ингибитора TLR4-IN-C34 достоверно ( $p < 0,01$ ) и существенно усиливало продукцию OVA специфического IgE. Продукция специфического IgE повысилась примерно в 2,5 раза (значения титров в группе без ингибитора и с ингибитором, соответственно,  $2950 \pm 180$  и  $8000 \pm 1000$ ) (рис. 1А). В то же время достоверного влияния на продукцию специфического IgG1 обнаружено не было (титры соответственно  $1,23 \pm 0,14 \times 10^6$  и  $1,9 \pm 0,4 \times 10^6$ ) (рис. 1Б). Ингибитор инфламмосомы СУ-09 не оказывал достоверного влияния на продукцию аллергенспецифических антител в данной модели (рис. 1).

Известно, что частицы, являющиеся продуктами неполного сгорания дизельного топлива, индуцируют формирование локального воспаления при попадании в легкие [5]. В данной работе был использован основной действующий компонент подобных частиц – бензо(а)пирен (BaP). В модели аллергии с использованием интраназального протокола достоверная в сравнении с группой, иммунизированной физраствором, продукция аллерген-специфических антител возникала только в группах, которым вводили BaP. Аэрополлютант достоверно повышал продукцию специфического IgE ( $p < 0,05$ ). Также под действием BaP повышалась продукция аллерген-специфических IgG1 ( $p < 0,01$ ) (рис. 2). Продукция специфического IgE под действием BaP возрастала более чем в 2 раза (титры в группе с антигеном без BaP и с BaP соответственно  $80 \pm 30$  и  $200 \pm 40$  соответственно), а продукция специфического IgG1 более чем в 10 раз (титры  $0,10 \pm 0,04 \times 10^6$  и  $1,2 \pm 0,3 \times 10^6$  соответственно) (рис. 2).



**Рисунок 1.** Влияние ингибиторов TLR4 и NLRP3 на гуморальный ответ в модели аллергии с подкожной иммунизацией

**Примечание.** Продукция специфических антител класса IgE (А) и IgG1 (Б) у мышей линии BALB/c после 6 недель иммунизации физиологическим раствором (Veh, «носитель») без антигена, OVA в дозе 0,1 мкг без ингибиторов, а также с ингибитором TLR4 рецептора TLR4-IN-C34 в дозе 1 мг/кг или с ингибитором NLRP3 рецептора CY-09 в дозе 20 мг/кг. \*/\*\*/\*\*\* –  $p < 0,05/0,01/0,001$  при сравнении с животными, которым вводили только физиологический раствор; ### –  $p < 0,05/0,01$  при сравнении с животными, иммунизированными антигеном без ингибитора.

Figure 1. Effect of TLR4 and NLRP3 inhibitors on humoral response in a subcutaneous allergy model

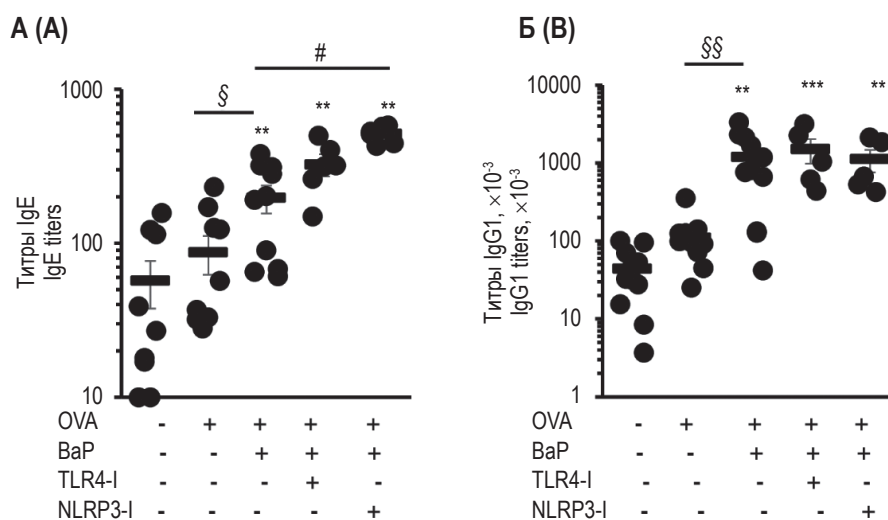
Note. Production of specific antibodies of the IgE (A) and IgG1 (B) classes in BALB/c mice after 6 weeks of immunization with saline solution (Veh, “vehicle”) without antigen, with OVA at a dose of 0.1  $\mu\text{g}$  without inhibitors, and also in the presence of TLR4 receptor inhibitor TLR4-IN-C34 at a dose of 1 mg/kg or with the NLRP3 receptor inhibitor CY-09 at a dose of 20 mg/kg. \*/\*\*/\*\*\*,  $p < 0.05/0.01/0.001$  significance of the difference when compared with saline immunized mice; ###,  $p < 0.05/0.01$  significance of the difference when compared with mice immunized by OVA without inhibitors.

В данной модели ингибитор TLR4-IN-C34 не оказывал достоверного влияния на продукцию аллерген-специфических антител. Напротив, ингибитор NLRP3 инфламмосомы CY-09 достоверно ( $p < 0,05$ ) повышал продукцию аллерген-специфических антител класса IgE. Повышение было довольно значительным, почти в 3 раза, титры в группе без ингибитора и с ингибитором соответственно  $200 \pm 40$  и  $500 \pm 20$  (рис. 2А). В то же время достоверного влияния на продукцию специфического IgG1 этот компонент не оказывал (титры в группе без ингибитора и с ингибитором соответственно  $1,2 \pm 0,3 \times 10^6$  и  $1,1 \pm 0,4 \times 10^6$  соответственно).

Таким образом, роль активации TLR4 присутствует в модели с использованием подкожной иммунизации, а роль NLRP3 инфламмосомы в модели с использованием интраназальной иммунизации и аэрополююганта.

Роль TLR4 в формировании локального аллергического воспаления и продукции аллерген-специфических антител показана во многих работах, например [1], другое дело что данная роль

неоднозначна. Однако существуют работы, где показана и его ингибирующая роль в развитии патологического процесса [9]. Эффект сильно зависит от количества агониста TLR4 LPS, содержащейся как примесь в белковых аллергенах. В настоящей работе нами показано, что активация TLR4 в процессе аллергического воспаления, блокировавшаяся низкомолекулярным ингибитором TLR4-IN-C34, подавляла продукцию специфического IgE в модели с подкожной иммунизацией. Ингибитор достоверно и примерно в 2 раза усиливал продукцию белок-специфического IgE, но не IgG1 в данной модели, но не в модели с интраназальным введением аллергена. Используемый нами OVA содержал минимальные примеси LPS (0,04 EU в 10 мкг белка), что, возможно, было достаточно для слабой активации TLR4. Однако активировать TLR4 способен не только LPS, но также некоторые белковые алармины, высвобождающиеся из повреждаемых клеток, такие как HMGB1 [10]. Скорее всего, эффект был обусловлен именно ими.



**Рисунок 2. Влияние ингибиторов TLR4 и NLRP3 на гуморальный ответ в модели аллергии с интраназальной иммунизацией**

Примечание. Продукция специфических антител класса IgE (А) и IgG1 (Б) у мышей линии BALB/c после 8 недель иммунизации антигеном OVA в дозе 0,3 мкг без дополнительных стимулов и ингибиторов, OVA в присутствии BaP в дозе 4 нг, а также OVA и BaP с ингибитором TLR4-рецептора TLR4-IN-C34 в дозе 1 мг/кг или с ингибитором NLRP3-рецептора CY-09 в дозе 20 мг/кг. \*/\*\*/\*\*\* –  $p < 0,05/0,01/0,001$  при сравнении с животными, которым вводили только физиологический раствор; §/§§ –  $p < 0,05/0,01$  при сравнении животных, иммунизированных антигеном с BaP и без него; ### –  $p < 0,05/0,01$  при сравнении с животными, иммунизированными антигеном без ингибитора.

Figure 2. Effect of TLR4 and NLRP3 inhibitors on the humoral response in the allergy model with intranasal immunization

Note. Production of specific antibodies of the IgE (A) and IgG1 (B) classes in BALB/c mice after 8 weeks of immunization with the OVA antigen at a dose of 0.3  $\mu$ g without additional stimuli and inhibitors, with OVA in the presence of BaP at a dose of 4 ng, and OVA and BaP with the TLR4 receptor inhibitor TLR4-IN-C34 at a dose of 1 mg/kg or with the NLRP3 receptor inhibitor CY-09 at a dose of 20 mg/kg. \*/\*\*/\*\*\*,  $p < 0.05/0.01/0.001$  significance of the difference when compared with saline immunized mice; §/§§,  $p < 0.05/0.01$  significance of difference when compared the groups immunized by antigen with and without BaP; ###,  $p < 0.05/0.01$  significance of the difference when compared with mice immunized by OVA without inhibitors.

Напротив, роль активации NLRP3-инфлам- масомы присутствовала в модели с использо- ванием интраназальной иммунизации. В этом случае эффект ингибитора CY-09 также носил стимулирующий характер и проявлялся только в отношении продукции специфического IgE (подъем продукции в 2,5 раза), но не IgG1. Это, казалось бы, противоречит литературным дан- ным, показавшим необходимость активации NLRP3-инфламмосомы для развития аллерги- ческого воспаления [3]. Возможное объяснение заключается в том, что в некоторых условиях ак- тивация NLRP3-инфламмосомы может вызвать особый вид клеточной смерти – пироптоз, свя- занный с формированием больших пор в цито- плазматической мембране с участием гасдермина D [4]. При этом пироптоз может наблюдаться не только в макрофагах, но и в В-лимфоцитах [11]. В-лимфоцитах он возможен при действии на них высоких доз фактора BAFF при условии отсут- ствия параллельной стимуляции В-клеточного рецептора антигеном, процесс зависит от форми-

рования АФК и выхода ионов  $K^+$  из клеток [11]. В том случае, если предшественники  $IgE^+$ В- лимфоцитов и плазматических клеток, либо сами эти клетки, подвергались подобному процессу, ингибирование NLRP3-инфламмосомы могло способствовать их выживаемости.

Важно отметить, что в обоих случаях эффект низкомолекулярных ингибиторов проявлялся именно в отношении продукции специфических IgE. Таким образом, разработка и использование мягких агонистов TLR4 и NLRP3 представляется нам перспективной для использования в методе аллерген-специфической иммунотерапии.

## Заключение

Таким образом, ингибитор TLR4 и NLRP3 повышали продукцию специфического IgE соот- ветственно в модели с использованием подкож- ной иммунизации и в модели с использованием интраназальной иммунизации соответственно. Достоверного влияния на продукцию специфи- ческих IgG1 не было.

## Список литературы / References

1. Белоглазов В.А., Лугачев Б.И. Молекулярные механизмы роли Толл-подобных рецепторов 4-го типа и убиквитин-модифицирующего фермента A20 в патогенезе бронхиальной астмы // Иммунология, 2019. Т. 40, № 1. С. 61-66. [Beloglazov V.A., Lugachyov B.I. Molecular mechanisms of the role of Toll-like receptors type 4 and ubiquitin-modifying enzyme A20 in the pathogenesis of bronchial asthma. *Immunologiya = Immunologiya*, 2019, Vol. 40, no 1, pp. 61-66. (In Russ.)]
2. Захарова И.А. Распространенность бронхиальной астмы среди лиц молодого возраста, проживающих в крупном промышленном городе // Казанский медицинский журнал, 2014. Т. 95, № 4. С. 548-552. [Zakharova I.A. Prevalence of bronchial asthma among young people living in a large industrial city. *Kazanskiy medicinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2014, Vol. 95, no. 4, pp. 548-552. (In Russ.)]
3. Пирожков С.В., Литвицкий П.Ф. Роль инфламмосом в патогенезе социально-значимых заболеваний человека // Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2008. Т. 62, № 1. С. 77-89. [Pirozhkov S.V., Litvickij P.F. The role of inflammasomes in the pathogenesis of socially significant human diseases. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy*, 2008, Vol. 62, no. 1, pp. 77-89. (In Russ.)]
4. Русецкая Н.Ю., Логинова Н.Ю., Покровская Е.П., Чесовских Ю.С., Титова Л.Е. Редокс-регуляция NLRP3-опосредованного воспаления и пироптоза // Биомедицинская химия, 2023. Т. 69, № 6. С. 333-352. [Ruseckaya N.Yu., Loginova N.Yu., Pokrovskaya E.P., Chesovskih Yu.S., Titova L.E. Redox regulation of NLRP3-dependent inflammation and pyroptosis. *Biomedicinskaya khimiya = Biomedical Chemistry*, 2023, Vol. 69, no. 6, pp. 333-352. (In Russ.)]
5. Сопрун Л.А., Акулин И.М., Лукашенко М.В., Чурилов Л.П., Старшинова А.А., Яблонский П.К. Твердые пылевые частицы и проблема их определения при бронхолегочной патологии (обзор литературы) // Медицинский альянс, 2019. Т. 7, № 4. С. 69-76. [Soprun L.A., Akulin I.M., Lukashenko M.V., Churilov L.P., Starshinova A.A., Yablonskiy P.K. Solid dust particles and the problem of their determination in bronchopulmonary pathology (literature review). *Medicinskiy aliyans = Medical Alliance*, 2019, Vol. 7, no. 4, pp. 69-76. (In Russ.)]
6. Chen Y., Li D., Sun L., Qi K., Shi L. Pharmacological inhibition of toll-like receptor 4 with TLR4-IN-C34 modulates the intestinal flora homeostasis and the MyD88/NF-κB axis in ulcerative colitis. *Eur. J. Pharmacol.*, 2022, Vol. 934, 175294. doi: 10.1016/j.ejphar.2022.175294.
7. Chudakov D.B., Kotsareva O.D., Konovalova M.V., Tsaregorodtseva D.S., Shevchenko M.A., Sergeev A.A., Fattakhova G.V. Early IgE production is linked with extrafollicular B- and T-cell activation in low-dose allergy model. *Vaccines (Basel)*, 2022, Vol. 10, no. 6, 969. doi: 10.3390/vaccines10060969.
8. Hirota J.A., Gold M.J., Hiebert P.R., Parkinson L.G., Wee T., Smith D., Hansbro P.M., Carlsten C., VanEeden S., Sin D.D., McNaghy K.M., Knight D.A. The nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat protein 3 inflammasome/IL-1 receptor I axis mediates innate, but not adaptive, immune responses after exposure to particulate matter under 10 μm. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2015, Vol. 52, no. 1, pp 96-105.
9. Hyde E.J., Wakelin K.A., Daniels N.J., Ghosh S., Ronchese F. Similar immune mechanisms control experimental airway eosinophilia elicited by different allergens and treatment protocols. *BMC Immunol.*, 2019, Vol. 20, 18. doi: 10.1186/s12865-019-0295-y.
10. Kim S., Kim S.Y., Pribis J.P., Lotze M., Mollen K.P., Shapiro R., Loughran P., Scott M.J., Billiar T.R. Signaling of high mobility group box 1 (HMGB1) through toll-like receptor 4 in macrophages requires CD14. *Mol. Med.*, 2013, Vol. 19, no. 1, pp. 88-98.
11. Lim K.-H., Chen L.-C., Hsu K., Chang C.-C., Chang C.-Y., Kao C.-W., Chang Y.-F., Chang M.-C., Chen C.G. BAFF-driven NLRP3 inflammasome activation in B cells. *Cell Death Dis.*, 2020, Vol. 11, 820. doi: 10.1038/s41419-020-03035-2.
12. Trompette A., Divanovic S., Visintin A., Blanchard C., Hegde R.S., Madan R., Thorne P.S., Wills-Karp M., Giovannini T.L., Weiss J.P., Karp C.L. Allergenicity resulting from functional mimicry of a Toll-like receptor complex protein. *Nature*, 2009, Vol. 457, no. 7229, pp. 585-588.
13. Tsuchiya K., Siddiqui S., Risse P.-A., Hirota N., Martic J.G. The presence of LPS in OVA inhalations affects airway inflammation and AHR but not remodeling in a rodent model of asthma. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2012, Vol. 303, no 1, pp 54-63.

14. van Tilburg Bernandes E., Arrieta M.-C. Hygiene hypothesis in asthma development: is hygiene to blame? *Arch. Med. Res.*, 2017, Vol. 48, no 8, pp. 717-726.

15. Yang M., Zhao L. The selective NLRP3-inflammasome inhibitor CY-09 ameliorates kidney injury in diabetic nephropathy by inhibiting NLRP3-inflammasome activation. *Curr. Med. Chem.*, 2023, Vol. 30, no 28, pp. 3261-3270.

---

**Авторы:**

**Чудаков Д.Б.** — к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточных взаимодействий ФГБУН «Государственный научный центр «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»» Российской академии наук, Москва, Россия

**Шустова О.А.** — к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории клеточных взаимодействий ФГБУН «Государственный научный центр «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»» Российской академии наук, Москва, Россия

**Коновалова М.В.** — к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточных взаимодействий ФГБУН «Государственный научный центр «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»» Российской академии наук, Москва, Россия

**Величинский Р.А.** — инженер-исследователь лаборатории клеточных взаимодействий ФГБУН «Государственный научный центр «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»» Российской академии наук, Москва, Россия

**Фаттахова Г.В.** — к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточных взаимодействий ФГБУН «Государственный научный центр «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»» Российской академии наук, Москва, Россия

**Authors:**

**Chudakov D.B.**, PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Cell Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Shustova O.A.**, PhD (Biology), Junior Research Associate, Laboratory of Cell Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Konovallava M.V.**, PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Cell Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Velichinskii R.A.**, Research Engineer, Laboratory of Cell Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Fattakhova G.V.**, PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Cell Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 21.03.2024  
Отправлена на доработку 23.03.2024  
Принята к печати 25.03.2024

Received 21.03.2024  
Revision received 23.03.2024  
Accepted 25.03.2024