

**ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ОДНОВРЕМЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ  
ГЛИКОЛИЗА И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-НАБОРОВ SEAHORSE XF**

Пономарева В. Н. <sup>1,2</sup>

Власова В. В. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИЭГМ УрО РАН»).

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет».

КОМБИНИРОВАНИЕ ТЕСТОВ SEAHORSE XF  
COMBINATION OF SEAHORSE XF TESTS

10.46235/1028-7221-17152-ATF

**ASSESSING THE FEASIBILITY OF SIMULTANEOUSLY  
INVESTIGATING GLYCOLYSIS AND OXIDATIVE  
PHOSPHORYLATION USING SEAHORSE XF TEST KITS**

Ponomareva V. N. <sup>a, b</sup>

Vlasova V. V. <sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

<sup>b</sup> Perm State University.

## Резюме

Метаболизм играет ключевую роль в поддержании пролиферации и функций иммунных клеток. Множество ферментативных реакций, главными из которых являются гликолиз и окислительное фосфорилирование, позволяет клеткам производить энергию, а также необходимые компоненты для синтеза белков, липидов и нуклеотидов. Современным подходом в изучении процессов, связанных с метаболизмом клетки, является использование анализатора Seahorse XF, который в реальном времени измеряет уровень внеклеточного закисления и потребления кислорода. Это позволяет получить точную информацию о динамике гликолиза и окислительного фосфорилирования в исследуемых клетках. Для оценки этих параметров применяются тест-наборы Glycolytic Rate Assay Kit и Cell Mito Stress Test Kit, часть компонентов которых идентична. Тем не менее, возможность одновременного использования компонентов этих тестов для исследования нескольких метаболических путей не предусмотрена, что приводит к увеличению трудоемкости и стоимости комплексных исследований, а также к повышенным требованиям к количеству биоматериала и риску ошибок при обработке данных. **Цель работы** – оценка возможности одновременного исследования гликолиза и окислительного фосфорилирования с использованием тест-наборов Seahorse XF. **Материалы и методы.** Были использованы три варианта тестов: 1) Glycolytic Rate Assay; 2) Cell Mito Stress Test; 3) комбинированный тест, подразумевающий последовательное внесение растворов ингибиторов из оригинальных тестов. **Результаты.** Показано, что объединение тестов не влияет на фиксируемые на базальном уровне показатели гликолиза и окислительного фосфорилирования. Другие параметры, такие как максимальная скорость гликолиза и окислительного фосфорилирования, компенсаторный гликолиз и резервная дыхательная емкость митохондрий, в совместном исследовании также были сопоставимы со значениями отдельных тестов. **Выводы.** Таким образом, совместное применение компонентов тест-наборов Glycolytic Rate Assay Kit и Cell Mito Stress Test Kit дает возможность одновременно изучать широкий диапазон метаболических показателей иммунных клеток, от базальных значений гликолитической и дыхательной активности до максимальных показателей и резервной емкости гликолиза и окислительного фосфорилирования. Это не приводит к потере качества получаемого результата, однако уменьшает количество необходимого биологического материала и погрешность при его обработке. Использование комбинированного подхода создаст возможность для глубокого изучения метаболических аспектов, связанных с активацией и пролиферацией как иммунных, так и опухолевых клеток.

**Ключевые слова:** иммунные клетки, метаболизм, гликолиз, окислительное фосфорилирование, митохондрии, анализатор Seahorse XF.

### **Abstract**

Metabolism is essential for maintaining immune cell proliferation and function. Many enzymatic processes, primarily glycolysis and oxidative phosphorylation (OXPHOS), enable energy production and generate intermediates critical for synthesizing proteins, lipids, and nucleotides. Modern metabolic studies increasingly employ the Seahorse XF analyzer which measures extracellular acidification and oxygen consumption in real time, providing dynamic insights into glycolytic and OXPHOS rates. To assess these parameters, researchers typically use the Glycolytic Rate Assay Kit and Cell Mito Stress Test Kit. While these kits share some components, their simultaneous use for multi-pathway analysis is not standardized, resulting in increased labor, costs and sample requirements, as well as heightened risks of data processing errors. **The aim** of this study is to evaluate the feasibility of combining these kits to simultaneously measure glycolysis and OXPHOS using the Seahorse XF assay kits. **Materials and Methods.** Three experimental approaches were tested: 1) Glycolytic Rate Assay; 2) Cell Mito Stress Test; 3) Combined protocol involving sequential addition of inhibitor solutions from both kits. **Main results.** Our results demonstrate that combining the tests does not affect the baseline measurements of glycolysis and OXPHOS. Other parameters, such as the maximum glycolytic and respiration rates, compensatory glycolysis, and spare respiratory capacity, were also comparable to individual assay results in combined analyses. **Conclusions.** Thus, combining components from the Glycolytic Rate Assay Kit and the Cell Mito Stress Test Kit enables simultaneous analysis of a wide range of metabolic parameters in immune cells, ranging from baseline glycolysis and OXPHOS values to its peak values, as well as reserve glycolysis and OXPHOS capacities. This approach preserves data quality while reducing the required sample material and minimizing processing errors. The use of a combined protocol creates the opportunity for an in-depth investigations into the metabolic aspects of immune cell activation and proliferation as well as tumor cells biology.

**Keywords:** immune cells, metabolism, glycolysis, oxidative phosphorylation, mitochondria, Seahorse XF analyzer.

## 1 Введение

2 Метаболизм поддерживает функциональную активность и  
3 пролиферацию всех клеток организма, в том числе – клеток иммунной  
4 системы [8]. Он представляет собой комплекс ферментативных реакций,  
5 объединенных в различные обменные процессы, такие как гликолиз, цикл  
6 трикарбоновых кислот, окислительное фосфорилирование,  
7 пентозофосфатный цикл, цикл метионина и многие другие [6]. Эти, в  
8 основном, взаимозависимые метаболические пути позволяют клеткам  
9 производить энергию, а также компоненты для синтеза белков, липидов и  
10 нуклеотидов, необходимые для эффективного функционирования иммунных  
11 клеток. При этом магистральными биоэнергетическими путями иммуноцитов  
12 являются гликолиз и окислительное фосфорилирование.

13 Для анализа показателей гликолиза и окислительного  
14 фосфорилирования разработаны различные методы [1, 5, 7]. Среди них  
15 новейшим является детекция внеклеточных потоков с использованием  
16 анализатора Seahorse XF (Agilent Technologies, США). Данный прибор  
17 способен в режиме реального времени оценивать уровень внеклеточного  
18 закисления (англ. extracellular acidification rate – ECAR) и потребления  
19 кислорода (англ. oxygen consumption rate – OCR) – показатели, отражающие  
20 интенсивность гликолиза и окислительного фосфорилирования  
21 соответственно.

22 Для исследования гликолиза на анализаторе Seahorse XF  
23 производителем разработан специальный тест-набор Glycolytic Rate Assay Kit  
24 (Agilent Technologies, США) [4]. В его состав входят ротенон (Rot), антимицин  
25 А (AA) и 2-дезоксид-D-глюкоза (2-DG). В ходе исследования анализатор  
26 Seahorse XF фиксирует базальные показатели ECAR, после чего  
27 автоматически вносит к клеткам раствор, содержащий смесь Rot/AA –  
28 ингибиторов комплексов I и III электротранспортной цепи (ЭТЦ)  
29 митохондрий. Эти вещества подавляют митохондриальное дыхание, что  
30 обычно приводит к увеличению скорости гликолиза до максимально  
31 возможных для исследуемых клеток значений. Затем к клеткам вносится  
32 аналог глюкозы 2-DG, который ограничивает скорость гликолиза до  
33 минимальных значений путем конкурентного связывания с гексокиназой.  
34 Разница между максимальными и минимальными показателями закисления  
35 среды отражает гликолитический потенциал клеток.

36 Для исследования окислительного фосфорилирования на анализаторе  
37 Seahorse XF производителем также разработан тест-набор Cell Mito Stress Test  
38 Kit (Agilent Technologies, США) [4]. В его состав входят олигомицин,  
39 карбонилцианид-4 (трифторметокси) фенилгидразон (FCCP) и смесь Rot/AA.  
40 В процессе исследования анализатор Seahorse XF фиксирует показатель OCR  
41 на базальном уровне, после чего автоматически вносит к клеткам ингибитор  
42 АТФ-синтазы – олигомицин. В его присутствии, интенсивность дыхания,

43 сопряженного с синтезом АТФ, снижается, а скорость потребления кислорода  
44 падает. Последующее добавление протонофора FCCP приводит к утечке  
45 протонов и снижению трансмембранного потенциала митохондрий, в  
46 результате чего потребление кислорода усиливается до максимально  
47 возможного для этих клеток значений. На последнем этапе смесь ингибиторов  
48 Rot/AA угнетает работу ЭТЦ. Такое исследование позволяет получить  
49 информацию не только об активности окислительного фосфорилирования, но  
50 и о резервной дыхательной емкости клеток.

51 Хотя некоторые компоненты двух наборов идентичны друг другу, их  
52 комбинирование для одновременного исследования нескольких  
53 метаболических путей не предусмотрено, что увеличивает трудоемкость и  
54 стоимость разностороннего исследования, повышает требования к количеству  
55 биоматериала и вероятность ошибки при его обработке. Цель работы –  
56 оценить возможность одновременного исследования гликолиза и  
57 окислительного фосфорилирования с использованием тест-наборов Seahorse  
58 XF.

## 59 2 Материалы и методы

60 В исследовании приняли участие здоровые добровольные доноры крови  
61 (n=4) в возрасте 25-32 лет. Были использованы три варианта тестов: 1)  
62 Glycolytic Rate Assay; 2) Cell Mito Stress Test; 3) комбинированный тест,  
63 подразумевающий последовательное внесение 4 растворов ингибиторов:  
64 олигомицина, FCCP, Rot/AA и 2-DG.

65 Кровь в объеме до 36 мл забирали из локтевой вены в пробирки,  
66 обработанные этилендиаминтетрауксусной кислотой (Guangzhou Improve  
67 Medical Instruments Co., Ltd, Китай). Мононуклеарные клетки выделяли с  
68 использованием стандартного протокола путем центрифугирования  
69 периферической крови в градиенте плотности Диаколла (1,077 г/мл, Диа-М,  
70 Россия) и отмывания полученных образцов раствором фосфатно-солевого  
71 буфера Дульбекко (DPBS; Gibco, США). Для проведения исследования клетки  
72 ресуспендировали в среде XF RPMI Medium (Agilent Technologies, США),  
73 содержащей 10 мМ глюкозы (Sigma, США), 2 мМ глутамина (Диа-М, Россия)  
74 и 1 мМ пирувата натрия (Sigma, США). Затем вносили по 40 мкл (200 тыс.)  
75 ресуспендированных клеток в лунки микропланшета Seahorse XF (Agilent  
76 Technologies, США), предварительно обработанные поли-D-лизином (Sigma,  
77 США): в среднем по 8 лунок для каждого донора на один тест. Для  
78 образования монослоя клеток планшет центрифугировали в течение 4 мин при  
79 200 g (Ac 4, Dc 1). После этого доводили объем до 150 мкл средой XF RPMI  
80 Medium. Планшет инкубировали 60 мин при +37°C в термостате. Растворы  
81 ингибиторов загружали в порты гидратированного сенсорного картриджа  
82 согласно схеме (таблица 1).

83 Технические повторности для каждого донора усредняли.  
84 Достоверность различий между группами устанавливали с использованием t-  
85 критерия Уэлча. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .  
86 Проведение статистических расчетов осуществляли при помощи  
87 программного обеспечения «GraphPad Prism 8» (GraphPad Software, США).  
88 Данные на графиках представлены в виде средних и стандартных ошибок  
89 средних.

### 90 3 Результаты и обсуждение

91 Было установлено, что объединение тестов Glycolytic Rate Assay и Cell  
92 Mito Stress Test не оказывает статистически значимого влияния на  
93 фиксируемые показатели гликолиза и окислительного фосфорилирования. Так  
94 при оценке базальных значений – до воздействия ингибиторов – как, ECAR,  
95 так и OCR в оригинальных тестах не отличались от комбинированного  
96 варианта ( $p < 0,05$ ; рис.1 а,а'). Базальные ECAR и OCR позволяют оценить  
97 потребность в энергии у клеток в исходных условиях. Отсутствие  
98 статистически значимых различий между результатами оригинального и  
99 комбинированного тестов подтверждает обоснованность использования  
100 данных, полученных после введения ингибиторов, для последующих  
101 сравнительных анализов.

102 Установлено, что максимальная скорость гликолиза, рассчитанная как  
103 разница между показателями, полученными после добавления Rot/AA и 2-DG,  
104 в комбинированном тесте не отличается от таковой в оригинальном тесте  
105 Glycolytic Rate Assay ( $p < 0,05$ ; рис.1 б). В свою очередь, максимальная скорость  
106 окислительного фосфорилирования, определяемая как разница между  
107 измерениями после введения FCCP и Rot/AA, в комбинированном тесте также  
108 не отличается от значений Cell Mito Stress Test ( $p < 0,05$ ; рис.1 б').

109 Сравнительный анализ выявил отсутствие статистически значимых  
110 различий в параметрах компенсаторного гликолиза и резервной дыхательной  
111 емкости (*англ.* Spare respiratory capacity – SRC) между оригинальными и  
112 комбинированными тестами ( $p < 0,05$ ; рис.1 в,в'). Оба показателя  
113 рассчитывались как разница между максимальными и базальными  
114 значениями.

115 Таким образом, с использованием системы Seahorse XF возможно  
116 проводить анализ гликолиза и окислительного фосфорилирования  
117 одновременно. Отсутствие статистически значимых различий между  
118 отдельными и комбинированными тестами подтверждает возможность их  
119 мультиплексирования без потери точности. Это приобретает особую  
120 значимость в контексте изучения патологических состояний клеток и  
121 организма, учитывая, что метаболические нарушения нередко  
122 свидетельствуют о клеточной дисфункции [3]. Так, измерение максимальной  
123 гликолитической и дыхательной емкости служит инструментом для оценки

124 адаптационного потенциала клеток. В исследовании мутантных клеток PITX2,  
125 ассоциированных с мерцательной аритмией, анализ максимальных значений  
126 ECAR выявил сохранение гликолитического пути в мутантных  
127 кардиомиоцитах предсердий на уровне контроля [2]. Однако при воздействии  
128 FCCP или  $\beta$ -адренергической стимуляции эти клетки демонстрировали  
129 недостаточную биоэнергетическую эффективность, что указывает на  
130 нарушение функции митохондрий. Расчет компенсаторного гликолиза и SRC  
131 позволяет анализировать метаболические резервы клеток и их  
132 стрессоустойчивость. Например, в модели гиперинсулинемии и  
133 гипергликемии у клапанных интерстициальных клеток отмечено синхронное  
134 увеличение как компенсаторного гликолиза, так и резервной дыхательной  
135 емкости при нормальном уровне глюкозы с гиперинсулинемией, а также при  
136 изолированной гипергликемии [9]. Эти данные, наряду с базальными и  
137 максимальными значениями ECAR и OCR, позволили сделать вывод, что  
138 гликолитическая и митохондриальная функции клапанных интерстициальных  
139 клеток не нарушается в условиях диабета.

#### 140 4 Выводы

141 Таким образом, одновременное использование компонентов тест-  
142 наборов Glycolytic Rate Assay Kit и Cell Mito Stress Test Kit обеспечивает  
143 комплексный анализ метаболических параметров иммунных клеток, включая  
144 базальные, максимальные и резервные показатели гликолиза и  
145 окислительного фосфорилирования. Комбинированный тест демонстрирует  
146 сохранение точности результатов при сокращении объема биологического  
147 материала и минимизации ошибок, связанных с его обработкой. Это, в свою  
148 очередь, может привести к снижению экономических затрат, оптимизации  
149 временных ресурсов и повышению эффективности метаболических  
150 исследований. Комплексный подход в измерении гликолиза и окислительного  
151 фосфорилирования может найти широкое применение в анализе  
152 функциональных различий между клеточными популяциями, а также в оценке  
153 влияния фармакологических агентов и других факторов на их метаболическую  
154 активность. Кроме того, комбинированный подход позволит эффективно  
155 исследовать метаболические аспекты активации и пролиферации иммунных  
156 клеток, а также клеток опухолей.

157 Работа выполнена в рамках государственного задания № 124021900006-  
158 5. В работе использовано оборудование ЦКП «Исследования материалов и  
159 вещества» ПФИЦ УрО РАН. Авторы выражают глубокую благодарность  
160 заведующей лаборатории молекулярной иммунологии «ИЭГМ УрО РАН»  
161 Сайдаковой Е.В.

ТАБЛИЦЫ

**Таблица 1.** Схема загрузки портов картриджа для трех тестов.

**Table 1.** Cartridge port loading scheme for three tests.

Порт картриджа Cartridge Port	Анализ гликолитической скорости Glycolytic Rate Assay		Тест на стресс митохондрий Cell Mito Stress Test		Комбинированный тест Combined test	
	Ингибитор Inhibitor	Конечная концентрация, мкМ Final concentration, μM	Ингибитор Inhibitor	Конечная концентрация, мкМ Final concentration, μM	Ингибитор Inhibitor	Конечная концентрация, мкМ Final concentration, μM
Порт А Port A	Rot/AA	0,5	Олигомицин oligomycin	2,0	Олигомицин oligomycin	2,0
Порт В Port B	2-DG	50,0	FCCP	2,5	FCCP	2,5
Порт С Port C	–	–	Rot/AA	0,5	Rot/AA	0,5
Порт D Port D	–	–	–	–	2-DG	50,0

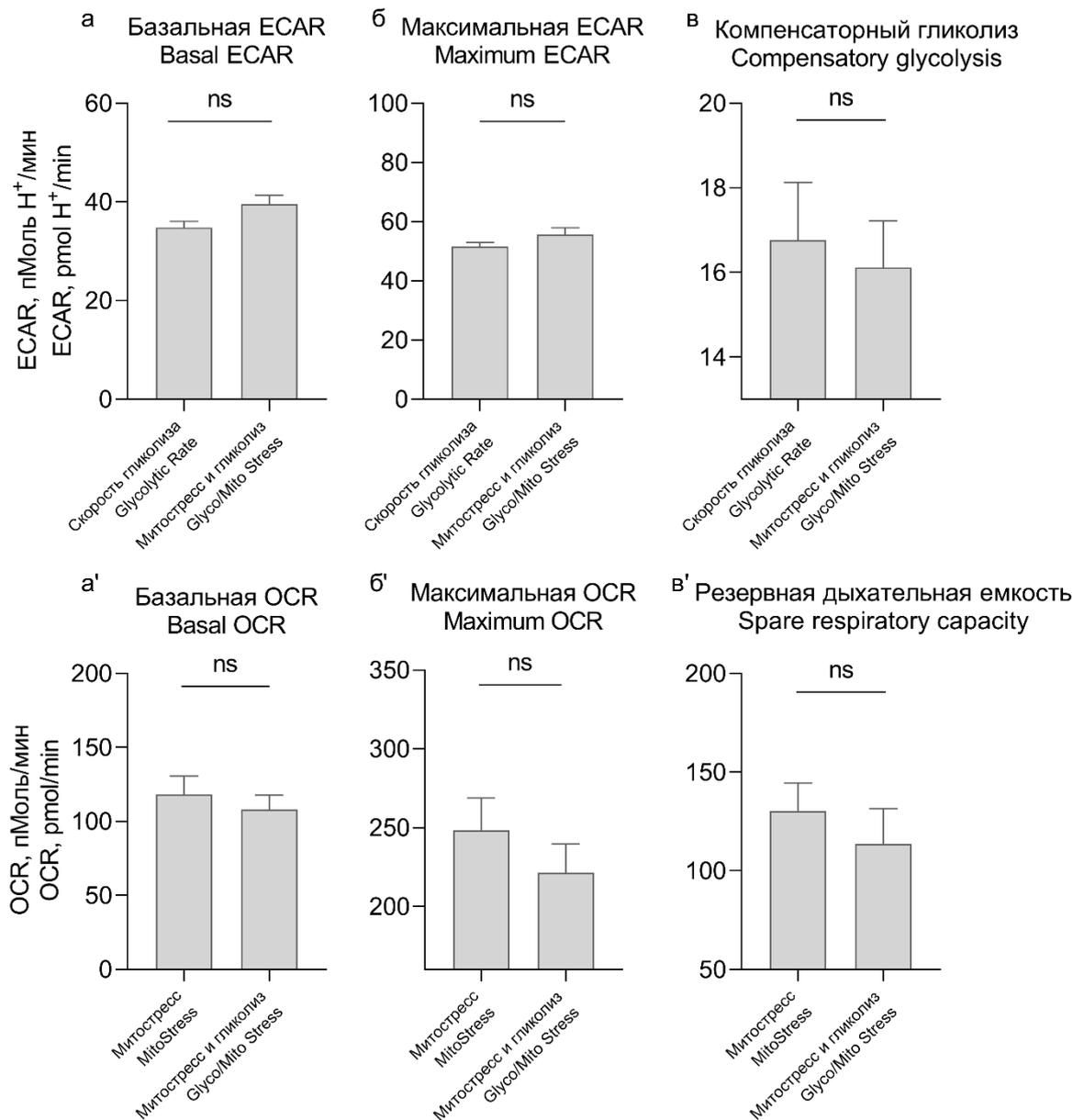
**Примечание:** Rot/AA – ротенон/антимидин А; 2-DG – 2-дезоксид-глюкоза; FCCP – карбонилцианид-4 (трифторметокси)фенилгидразон.

**Note:** Rot/AA – rotenone/antimycin A; 2-DG – 2-deoxy-D-glucose; FCCP – carbonyl cyanide-4 (trifluoromethoxy)phenylhydrazone.

РИСУНКИ

**Рисунок 1.** Сравнение параметров гликолиза и окислительного фосфорилирования при проведении оригинальных и комбинированных тестов.

**Figure 1.** Comparison of glycolysis and oxidative phosphorylation parameters between original and combined tests.



**Примечание.** Указаны средние и стандартные ошибки средних. Достоверность различий между группами устанавливали с использованием *t*-критерия Уэлча.

**Note.** The graph displays mean values with standard error bars. Statistical significance was determined using Welch's *t*-test to evaluate differences between groups.

## ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ\_МЕТАДААННЫЕ

### **Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку Пономарева Валерия Николаевна,**

м.н.с. лаборатории молекулярной иммунологии, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИЭГМ УрО РАН»). Адрес: 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13;

лаборант кафедры микробиологии и иммунологии, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет». Адрес: 614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;

телефон: (342)280-75-60;

e-mail: [ponomarievaVN@yandex.ru](mailto:ponomarievaVN@yandex.ru)

### **Ponomareva Valeria Nikolaevna,**

junior researcher of the Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 614081 Perm, 13Goleva str.;

laboratory assistant at the Department of Microbiology and Immunology Perm State University. 614068 Perm, 15Bukireva str.;

telephone: (342)280-75-60;

e-mail: [ponomarievaVN@yandex.ru](mailto:ponomarievaVN@yandex.ru)

### **Блок 2. Информация об авторах**

#### **Власова Виолетта Викторовна,**

м.н.с. лаборатории молекулярной иммунологии, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИЭГМ УрО РАН»). Адрес: 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13;

инженер кафедры микробиологии и иммунологии, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего

образование «Пермский государственный национальный исследовательский университет». Адрес: 614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;

телефон: (342)280-75-60;

e-mail: [violetbaudelaire73@gmail.com](mailto:violetbaudelaire73@gmail.com)

**Vlasova Violetta Victorovna,**

junior researcher of the Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 614081 Perm, 13Goleva str.;

engineer of the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University. 614068 Perm, 15Bukireva str.;

telephone: (342)280-75-60;

e-mail: [violetbaudelaire73@gmail.com](mailto:violetbaudelaire73@gmail.com)

### **Блок 3. Метаданные статьи**

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ОДНОВРЕМЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ГЛИКОЛИЗА И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-НАБОРОВ SEAHORSE XF

ASSESSING THE FEASIBILITY OF SIMULTANEOUSLY INVESTIGATING GLYCOLYSIS AND OXIDATIVE PHOSPHORYLATION USING SEAHORSE XF TEST KITS

**Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:**

КОМБИНИРОВАНИЕ ТЕСТОВ SEAHORSE XF  
COMBINATION OF SEAHORSE XF TESTS

**Ключевые слова:** иммунные клетки, метаболизм, гликолиз, окислительное фосфорилирование, митохондрии, анализатор Seahorse XF.

**Keywords:** immune cells, metabolism, glycolysis, oxidative phosphorylation, mitochondria, Seahorse XF analyzer.

Иммунологические чтения в Челябинске 2025.

Количество страниц текста – 4,

Количество таблиц – 1,

Количество рисунков – 1.

28.03.2025

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

<i>Порядковый номер ссылки</i>	<i>Авторы, название публикации, выходные данные</i>	<i>ФИО, название публикации на английском</i>	<i>Полный интернет адрес или DOI</i>
1	Радыгина Т. В., Петричук С. В., Курбатова О. В., Купцова Д. Г., Потапов А. С. Определение ферментов гликолиза и окислительного фосфорилирования в лимфоцитах у пациентов с иммунозависимыми заболеваниями. Аллергология и Иммунология в Педиатрии, 2023, №2, С. 54-56.	Radygina T.V., Petrichuk S.V., Kurbatova O.V., Kuptsova D.G., Potapov A.S. Determination of enzymes of glycolysis and oxidative phosphorylation in lymphocytes in patients with immuno-dependent diseases. Allergology and Immunology in Paediatrics.	<a href="https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-2-54-56">https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-2-54-56</a>
2	Benzoni P, Da Dalt L, Elia N, Popolizio V, Cospito A, Giannetti F, et al. PITX2 gain-of-function mutation associated with atrial fibrillation alters mitochondrial activity in human iPSC atrial-like cardiomyocytes. Front Physiol, 2023, Vol. 14, pp. 1250951.	—	<a href="https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1250951">https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1250951</a>
3	Buck MD, Sowell RT, Kaech SM, Pearce EL. Metabolic Instruction of Immunity. Cell, 2017, Vol. 169, no. 4, pp. 570-586.	—	<a href="https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.04.004">https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.04.004</a>
4	Childers G, Harry GJ. Mitochondrial Stress Assay and Glycolytic Rate Assay in Microglia Using Agilent Seahorse Extracellular Flux Analyzers. In: Llorens, J.,	—	<a href="https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1637-6_14">https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1637-6_14</a>

	Barenys, M. (eds) Experimental Neurotoxicology Methods. Neuromethods, 2021, Vol. 172, pp. 305-324.		
5	Lee HT, Lin CS, Pan SC, Wu TH, Lee CS, Chang DM, et al. Alterations of oxygen consumption and extracellular acidification rates by glutamine in PBMCs of SLE patients. Mitochondrion, 2019, Vol. 44, pp. 65-74..	–	<a href="https://doi.org/10.1016/j.mito.2018.01.002">https://doi.org/10.1016/j.mito.2018.01.002</a>
6	Li X, Sun X, Carmeliet P. Hallmarks of Endothelial Cell Metabolism in Health and Disease. Cell Metab, 2019, Vol. 30, no. 3, pp. 414-433.	–	<a href="https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.08.011">https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.08.011</a>
7	Li Z, Graham BH. Measurement of mitochondrial oxygen consumption using a Clark electrode. Methods Mol Biol, 2012, Vol. 837, pp. 63-72.	–	<a href="https://doi.org/10.1007/978-1-61779-504-6_5">https://doi.org/10.1007/978-1-61779-504-6_5</a>
8	Makowski L, Chaib M, Rathmell JC. Immunometabolism: From basic mechanisms to translation. Immunol Rev, 2020, Vol. 295, no. 1, pp. 5-14.	–	<a href="https://doi.org/10.1111/imr.12858">https://doi.org/10.1111/imr.12858</a>
9	Selig JI, Ouwens DM, Raschke S, Thoresen GH, Fischer JW, Lichtenberg A, et al. Impact of hyperinsulinemia and	–	<a href="https://doi.org/10.1016/j.bbadi.2019.05.019">https://doi.org/10.1016/j.bbadi.2019.05.019</a>

	hyperglycemia on valvular interstitial cells - A link between aortic heart valve degeneration and type 2 diabetes. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, Vol. 1865, no. 9, pp. 2526-2537.		
--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--