

**ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОВ НА ТОЛЕРАНТНОСТЬ МАКРОФАГОВ К
ЛИПОПОЛИСАХАРИДУ**

Эрдынеева Д. Б. ^{1,2},
Никифоров Н. Г. ^{1,3},
Верхова С. С. ^{1,4},
Орехов А. Н. ¹
Кулагова Т. А. ⁵

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», г. Москва, Россия.

² ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», г. Долгопрудный, Россия.

³ ФГБУН Институт биологии гена Российской Академии Наук (ИБГ РАН), г. Москва, Россия.

⁴ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», г. Москва, Россия.

⁵ Научно-исследовательское учреждение "Институт ядерных проблем" Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь.

**INFLUENCE OF CYTOKINES ON MACROPHAGE TOLERANCE TO
LIPOPOLYSACCHARIDE**

Erdyneeva D. B. ^{a, b},
Nikiforov N. G. ^{a, c},
Verkhova S. S. ^{a, d},
Orekhov A. N. ^a,
Kulagova T. A. ^e

^a Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia.

^b Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Russia.

^c Institute of Gene Biology of Russian Academy of Science (IGB RAS), Moscow, Russia.

^d Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery, Moscow, Russia.

^e Research Institute for Nuclear Problems of Belarusian State University, Minsk.

Резюме

Актуальность. Макрофаги имеют огромное значение в работе иммунной системы, будучи важными участниками врождённого иммунитета. Они способны как напрямую бороться с патогенами, так и опосредованно, регулируя работу окружающих клеток через биологически активные вещества. В ответ на различные стимулы макрофаги из базального состояния могут переходить в про- или противовоспалительное, поляризуясь в M1 или M2 фенотип. M1 макрофаги обладают провоспалительным фенотипом, где макрофаги активируются под воздействием липополисахарида клеточной стенки грамотрицательных бактерий или некоторых провоспалительных цитокинов. M2 макрофаги приобретают противовоспалительный фенотип при активации некоторых рецепторов иммунного ответа (Fcγ и TLR), цитокинами IL-4, IL-13, IL-10 и при других стимулах. Также макрофаги способны ослаблять свой иммунный ответ в зависимости от длительности и/или кратности воспалительного сигнала и формировать к нему толерантность. Особое значение имеет толерантность к бактериальному липополисахариду, в ходе которого макрофаги приобретают рефрактерность к повторной стимуляции по сравнению с первичной, продуцируя меньше цитокинов и хемокинов.

Цель. В нашем исследовании мы оценили роль цитокинов и хемокинов CCL2, CXCL1, CXCL9, CXCL12, IL-1-beta, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IL-22, TNF-α на иммунный ответ макрофагов на липополисахарид и формирование толерантности.

Материалы и методы. Первичные моноциты были получены из венозной крови здоровых доноров. Для стимуляции моноцитов и дифференцированных из них макрофагов использовался липополисахарид *E. Coli*.

Результаты. Нами было показано, что предварительная обработка первичных макрофагов человека рекомбинатными цитокинами IL-4 и TNF-α усиливает воспалительный ответ при повторной стимуляции липополисахаридом, то есть ослабляет развитие толерантности. Данный эффект выражался в усилении выработки цитокинов - TNF-α, IL-6, IL-10 и хемокина IL-8 для рекомбинатного IL-4 и TNF-α для рекомбинатного TNF-α. При этом рекомбинатный IL-4 оказался также способен усиливать воспалительный сигнал макрофагов при однократной стимуляции липополисахаридом, увеличивая секрецию TNF-α и IL-8.

Выводы. Таким образом, мы показали, что некоторые цитокины могут влиять на толерантность макрофагов к липополисахариду. В этом явлении может быть задействован переход макрофагов из одной поляризации в другую или в промежуточную форму. Модулирование фенотипа и иммунного ответа макрофагов открывает путь к созданию новых терапевтических подходов к воспалительным заболеваниям, в патогенезе которых развитие толерантности к липополисахариду играет немалую роль - таким как сепсис и атеросклероз.

Ключевые слова: макрофаги, моноциты, толерантность, воспаление, цитокины, липополисахарид, LPS.

Abstract

Relevance. Macrophages have great importance in the functioning of the immune system, being important participants in innate immunity. They are capable of both directly and indirectly fighting pathogens by regulating the work of surrounding cells through biologically active substances. In response to various stimuli, macrophages can switch from a basal state to a pro- or anti-inflammatory state, polarizing into the M1 or M2 phenotype. M1 macrophages have a pro-inflammatory phenotype, where macrophages are activated under the influence of lipopolysaccharide of the cell wall of gram-negative bacteria or some pro-inflammatory cytokines. M2 macrophages acquire an anti-inflammatory phenotype upon activation of some immune response receptors (Fcγ and TLR), cytokines IL-4, IL-13, IL-10 and other stimuli. Macrophages are also capable of weakening their immune response depending on the duration and/or frequency of the inflammatory signal and forming tolerance to it. Of particular importance is tolerance to bacterial lipopolysaccharide, during which macrophages acquire refractoriness to repeated stimulation compared to the primary one, producing fewer cytokines and chemokines.

Aim. In our study, we assessed the role of cytokines and chemokines CCL2, CXCL1, CXCL9, CXCL12, IL-1-beta, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IL-22, TNF-α on the immune response of macrophages to lipopolysaccharide and the formation of tolerance.

Materials and methods. Primary monocytes were obtained from venous blood of healthy donors. E. Coli lipopolysaccharide was used to stimulate monocytes and differentiated macrophages.

Results. We have shown that pre-treatment of primary human macrophages with recombinant cytokines IL-4 and TNF-α enhances the inflammatory response to repeated stimulation with lipopolysaccharide, i.e. weakens the development of tolerance. This effect was expressed in the increased production of cytokines - TNF-α, IL-6, IL-10 and chemokine IL-8 for recombinant IL-4 and TNF-α for recombinant TNF-α. At the same time, recombinant IL-4 was also able to enhance the inflammatory signal of macrophages upon a single stimulation with lipopolysaccharide, increasing the secretion of TNF-α and IL-8.

Conclusion. Thus, we have shown that some cytokines can affect the tolerance of macrophages to lipopolysaccharide. This phenomenon may involve the transition of macrophages from one polarization to another or to an intermediate form. Modulation of the phenotype and immune response of macrophages opens the way to the creation of new therapeutic approaches to inflammatory diseases, in the pathogenesis of which the development of tolerance to lipopolysaccharide plays a significant role - such as sepsis and atherosclerosis.

Keywords: macrophages, monocytes, tolerance, inflammation, cytokines, lipopolysaccharide, LPS.

1 Введение

Макрофаги являются ключевыми эффекторами врождённого иммунитета и также задействованы в работе адаптивного иммунитета. При этом они способны не только напрямую фагоцитировать патогены, но также и выполнять регуляторную роль. При активации макрофаги переходят из гомеостатического фенотипа в провоспалительный для борьбы с патогеном. В то же время для восстановления гомеостаза и контроля чрезмерной воспалительной реакции организма макрофаги, напротив, могут переходить в противовоспалительный фенотип. Нарушение функции макрофагов приводит к развитию множества заболеваний воспалительного генеза.

Пластичность макрофагов заключается в различных направлениях их поляризации. В упрощённом виде существуют два подтипа макрофагов: M1 и M2, отличающиеся своими функциями. M1-макрофаги обладают провоспалительным фенотипом, продуцируя токсичные для патогенов вещества (например, активные формы кислорода и NO), воспалительные цитокины, участвуют в ответах Th1, а также подавляют пролиферацию клеток. M2, напротив, обладают противовоспалительным фенотипом, способствуют пролиферации клеток и регенерации тканей, участвуют в Th2 ответах. При этом нарушение их нормальной функции может привести к различным патологическим состояниям [5].

Важным событием в жизни макрофага является его активация при встрече с молекулярными паттернами, ассоциированными с патогенами (PAMP) или повреждением (DAMP). Данный процесс опосредуется через специальные рецепторы - PRR, к которым принадлежат Толл-подобные рецепторы (TLR). Наиболее известным среди них является TLR4, который способен связываться с липополисахаридом (LPS), основным компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

LPS индуцирует выработку различных хемокинов и про- и противовоспалительных цитокинов, таких как CCL2, IL1 β , IL6, IL8, IL10, IL12, IL15, TNF α , TGF β и т.д. Липополисахарид бактерий, колонизирующих различные органы человека, может быть источником различных воспалительных состояний, вплоть до болезней, на первый взгляд не имеющих инфекционную этиологию, таких как атеросклероз [4].

M1-макрофаги активируются LPS и другими веществами, связанными с патогенными микроорганизмами, а также провоспалительными цитокинами TNF- α и IFN- γ . M2-макрофаги поляризуются противовоспалительными цитокинами (IL-4 и IL-13 для M2a подтипа, IL-10 и TGF- β для M2c подтипа), активацией рецепторов Fc γ и TLR (M2b), и тд [6].

Макрофаги могут изменять функциональный профиль под действием различных стимулов, переключаясь между типами поляризации. Так, транскриптомный анализ показал, что при последовательном изменении условий среды, т.е. добавления ЛПС, про- и противовоспалительных цитокинов, поляризованные M1-макрофаги могут переходить в фенотип M2[6]. Также было обнаружено, что стимуляция TLR-3 меняет поляризацию

45 мышинных M2 в M1 подтип, способствуя регрессии опухоли [11]. А
46 стимуляция TLR-2 рецептора M2-макрофагов, полученных из крови человека,
47 снижало их противовоспалительную активность, таким образом, способствуя
48 переходному M1/M2 подтипу [9].

49 Известно, что при повторном воздействии LPS на макрофаги, вторичный
50 воспалительный ответ будет менее сильным - так называемое явление
51 толерантности к липополисахариду. Толерантность к LPS может защитить
52 организм от агрессивного воздействия провоспалительных цитокинов -
53 цитокинового шторма, однако параллельно при этом повышается риск
54 ослабления защиты перед патогенами. Явление толерантности к LPS
55 задействовано в патогенезе различных хронических воспалительных
56 заболеваний [3].

57 Целью нашего исследования было изучить влияние различных
58 цитокинов и хемокинов на иммунный ответ макрофагов в условиях
59 толерантности к липополисахариду.

60 2 Материал и методы

61 Для выделения РВМС использовалась венозная кровь 3 здоровых
62 доноров. Методом иммуномагнитной сепарации из полученных
63 мононуклеарных клеток были выделены CD14⁺ моноциты. Клетки
64 культивировались в 48-луночных планшетах (1×10^6 клеток/мл в 500 мкл) в
65 среде в среде RPMI-1640 с добавлением 2 mM L-глутамин (ПанЭко, Россия),
66 пенициллин-стрептомицин (ПанЭко, Россия), 10% эмбриональной телячьей
67 сыворотки (Биолот, Россия) и GM-CSF (50 нг/мл, SCI-STORE, Россия).

68 На 4-й день после выделения моноцитам сменяли среду на свежую для
69 продолжения дифференцировки в макрофаги. На 6-й день к макрофагам в
70 свежей культуральной среде добавлялся один из рекомбинатных
71 цитокинов/хемокинов человека (10 нг/мл): (rhCCL2, rhCXCL1, rhCXCL9,
72 rhCXCL12, rhIL-1-beta, rhIL-4, rhIL-6, rhIL-7, rhIL-8, rhIL-15, rhIL-22, rhTNF-
73 α). Клетки инкубировались 4 часа в присутствии цитокина/хемокина, затем
74 после смены среды у половины клеток происходила первая стимуляция LPS E.
75 Coli (100 нг/мл, Sigma-Aldrich, США). На 7-й день после выделения LPS после
76 1-х суток инкубации с LPS сменялась культуральная среда (при этом
77 кондиционированная среда замораживалась для последующего ИФА). На 11-
78 й день происходила новая стимуляция LPS макрофагов уже во всех лунках. На
79 12-й день после суток инкубации с LPS собиралась среда и замораживалась
80 для ИФА.

81 ИФА цитокинов в кондиционированной среде (TNF- α , CCL2, IL-1beta,
82 IL-6, IL-8, IL-10) проводился с помощью наборов DuoSet ELISA Development
83 kit (R&D Systems, США) и микропланшетного ридера Tecan Infinite F500.

84 Статистический анализ проводился с использованием t-критерия
85 Стьюдента для независимых выборок при уровне значимости $p < 0,05$ с
86 помощью программы JASP 0.19.3 и GraphPad Prism 8.

87 3 Результаты и обсуждение

88 В ходе нашего исследования было проверено 12 рекомбинатных
89 хемокинов и цитокинов (rhCCL2, rhCXCL1, rhCXCL9, rhCXCL12, rhIL-1-beta,
90 rhIL-4, rhIL-6, rhIL-7, rhIL-8, rhIL-15, rhIL-22, rhTNF- α) на способность
91 изменять иммунный ответ макрофагов при однократной (как на 6-й день после
92 выделения, так и на 11-й день) и двукратной стимуляции LPS. Однако
93 статистически значимые результаты были получены только для rhIL-4 и
94 rhTNF- α .

95 Обнаружено, что предварительная обработка макрофагов человека
96 рекомбинантным rhIL-4 повышает секрецию TNF- α , IL-6, IL-8 и IL-10 после
97 повторной стимуляции LPS по сравнению с контролем (рисунок 1).

98 Примечательно, что обработанные rhIL-4 макрофаги, которым на 11-й
99 день после выделения в первый раз был добавлен LPS, также увеличивают
100 продукцию TNF- α и IL-8 по сравнению с контролем (рисунок 2).

101 Также было выявлено, что обработка рекомбинантным rhTNF- α
102 способствует повышению концентрации TNF- α в кондиционированной среде
103 макрофагов после повторной стимуляции LPS (рисунок 3).

104 Таким образом, предварительная обработка rhIL-4 и rhTNF- α усиливала
105 воспалительный ответ макрофагов при повторной стимуляции LPS по
106 сравнению с контролем, демонстрируя снижение толерантности к
107 эндотоксину. При этом rhIL-4 также способствовала усилению иммунного
108 ответа при однократной стимуляции LPS.

109 Известно, что IL-4 способствует поляризации макрофагов в
110 противовоспалительный M2-фенотип. Согласно данным литературы,
111 предварительная обработка макрофагов IL-4 может усиливать иммунный
112 ответа на LPS. В работе Stout et al. (2005) было показано, что предварительная
113 обработка IL-4 или IFN- γ усиливала секрецию воспалительных цитокинов
114 TNF- α и IL-12 и подавляла продукцию IL-10 в ответ на стимуляцию LPS.
115 Интересно, что IFN- γ подавлял продукцию CCL2, а IL-4 её усиливал [10]. В
116 исследовании Li et al. (2023) индукция цис-аконитатдекарбоксылазы (IRG-1),
117 опосредованная ЛПС, была нарушена как в поляризованных IFN γ макрофагах
118 M1, так и в поляризованных IL-4 макрофагах M2 при двойной стимуляции,
119 при этом экспрессия гемоксигеназы-1 (HO-1) была выше в M2-макрофагах. А
120 в присутствии диметил итаконата, известного своими
121 иммуномодулирующими свойствами, те же M2-макрофаги демонстрировали
122 повышенную секрецию TNF- α и IL-6 после стимуляции LPS [7]. Результаты
123 нашего исследования сходятся с данными литературы, однако
124 стимулирующий эффект IL-4 проявился также при повторной стимуляции
125 LPS, даже сильнее, чем при однократной стимуляции, что требуют более
126 подробных исследований.

127 Данные литературы довольно противоречивы касательно влияния TNF-
128 α на последующую стимуляцию LPS. Например, TNF- α и LPS индуцируют
129 перекрёстную толерантность в клетках линии острого моноцитарного лейкоза
130 THP-1 [2]. На первичных макрофагах человека было показано, что
131 предварительное воздействие TNF- α вызывает толерантность к LPS через

132 активацию фермента GSK3 [8]. Однако в исследовании Li et al. (2023) было
133 показано, что предварительная обработка TNF- α первичных макрофагов,
134 полученных из моноцитов крови человека, повышает секрецию TNF- α и IL-6,
135 как после единичной, так и после повторной стимуляции липополисахаридом.
136 При этом авторы утверждают, что сам TNF- α не влияет на толерантность, а
137 лишь усиливает продукцию цитокинов в ответ на стимуляцию LPS [7]. Наши
138 результаты более схожи с результатами последней статьи, но при этом rhTNF-
139 α оказывал стимулирующий эффект только на толеризированные макрофаги.
140 Возможно, в этом играет присутствие большой концентрации GM-CSF в
141 среде, который также может влиять на развитие толерантности к LPS [1].
142 Очевидна необходимость в более подробном исследовании кросс-
143 толерантности TNF- α и LPS.

144 **4 Выводы**

145 Таким образом, данные нашего исследования показывают, что
146 некоторые цитокины, такие как IL-4 и TNF- α способны модулировать
147 эффективность толерантности макрофагов к липополисахариду. Однако, всё
148 ещё требуется более подробно изучить механизм взаимодействия цитокинов и
149 липополисахарида в макрофагах, особенно в контексте толерантности к LPS.
150 Исследования по данной тематике позволят создать новые подходы к лечению
151 хронических воспалительных заболеваний.

152 **Благодарности**

153 Авторы благодарят Центр коллективного пользования ИБГ РАН, за
154 возможность использования научного оборудования. Исследование
155 выполнено при поддержке гранта РФФИ № 25-25-00292.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Влияние rhIL-4 на толерантность макрофагов к LPS (после повторной стимуляции). Примечание. n=3. Результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения. * - различия $p < 0,05$ по сравнению с контролем без добавления рекомбинатного цитокина. А – значения секреции макрофагами TNF- α в пкг/мл, В - значения секреции IL-6 в пкг/мл, С- значения секреции IL-8 в пкг/мл, D- значения секреции IL-10 в пкг/мл.

Figure 1. Effect of rhIL-4 on macrophage tolerance to LPS (after repeated stimulation). Note. n=3. Results are presented as mean and standard deviation. * - differences $p < 0.05$ compared to control without addition of recombinant cytokine. A - values of TNF- α secretion by macrophages in pg/ml, B - values of IL-6 secretion in pg/ml, C - values of IL-8 secretion in pg/ml, D - values of IL-10 secretion in pg/ml.

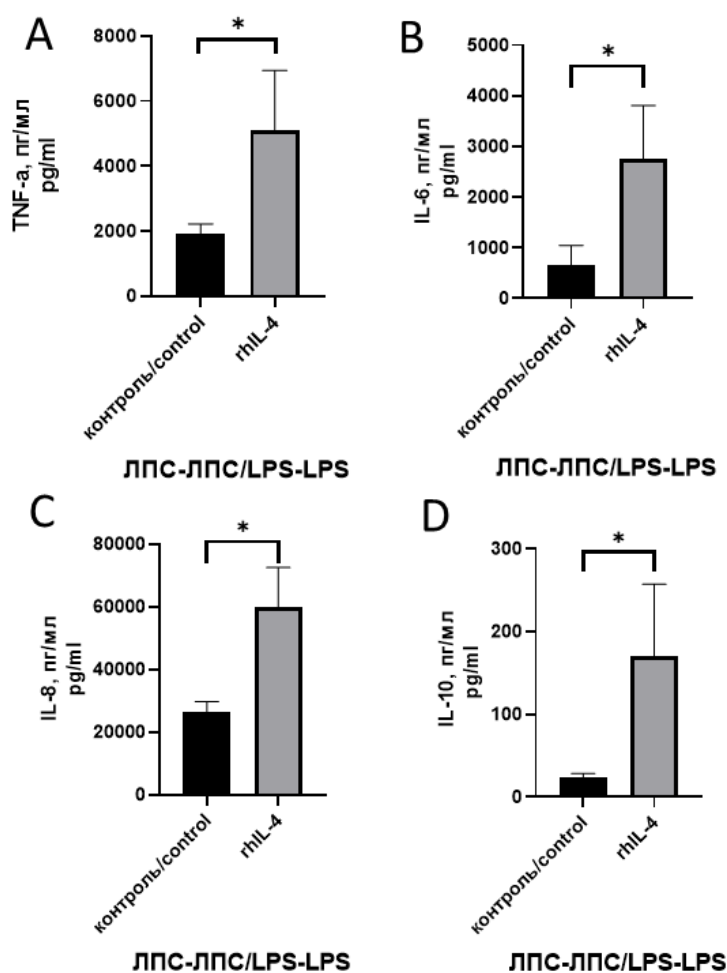


Рисунок 2. Влияние rhIL-4 на секрецию цитокинов макрофагами при однократной стимуляции LPS. Примечание. n=3. Результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения. * - различия $p < 0,05$ по сравнению с контролем без добавления рекомбинатного цитокина. А – значения секреции макрофагами TNF- α в пкг/мл, В - значения секреции IL-8 в пкг/мл.

Figure 2. Effect of rhIL-4 on cytokine secretion by macrophages after a single stimulation with LPS. Note: n=3. Results are presented as mean and standard deviation. * - differences $p < 0.05$ compared to the control without the addition of recombinant cytokine. A - values of TNF- α secretion by macrophages in pg/ml, B - values of IL-8 secretion in pg/ml.

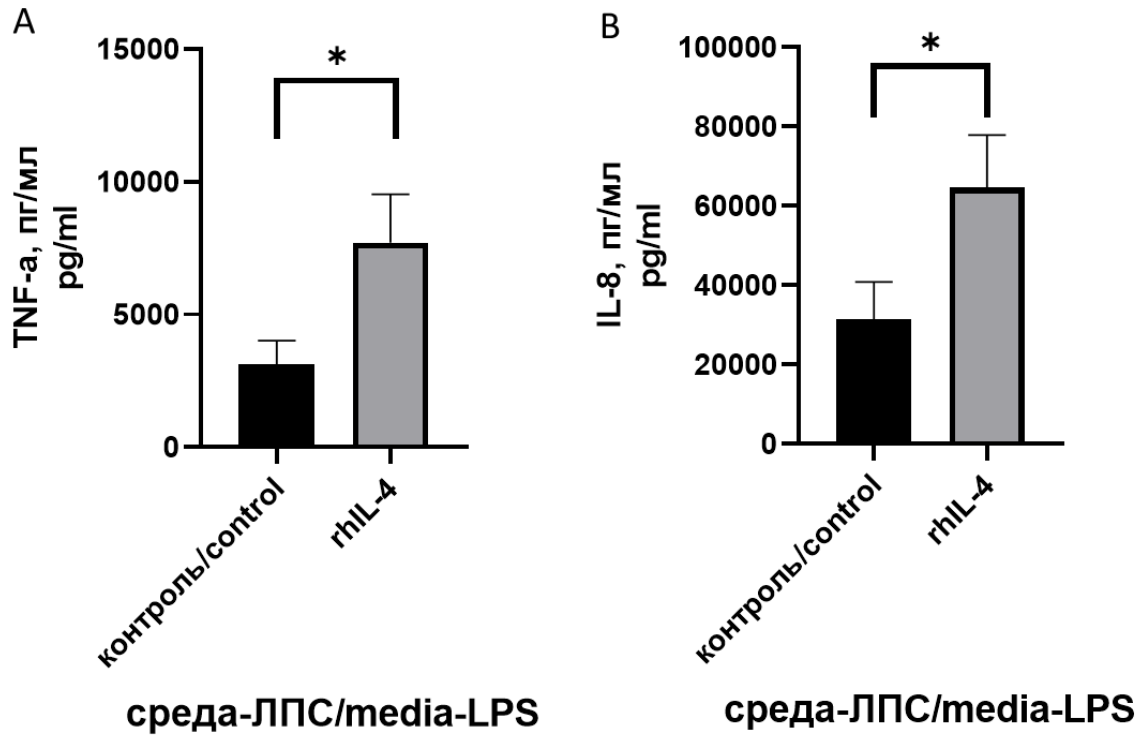
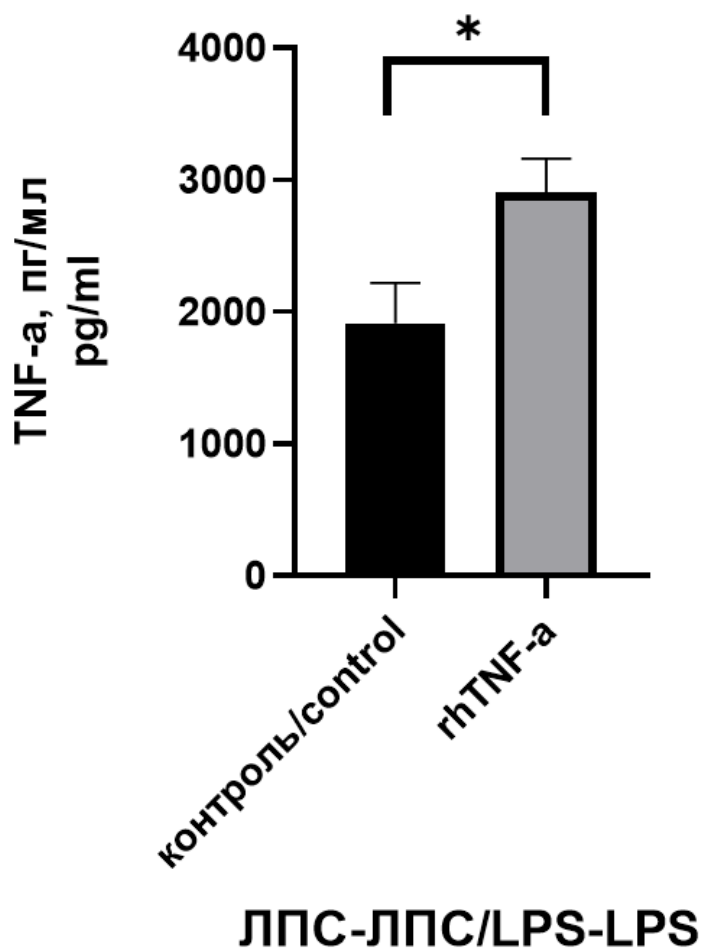


Рисунок 3. Влияние rhTNF-а на секрецию макрофагами TNF- α при однократной стимуляции LPS. Примечание. n=3. Результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения. * - различия $p < 0,05$ по сравнению с контролем без добавления рекомбинатного цитокина.

Figure 3. Effect of rhTNF-а on TNF- α secretion by macrophages after a single LPS stimulation. Note: n=3. Results are presented as mean and standard deviation. * - differences $p < 0.05$ compared to the control without the addition of recombinant cytokine.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Эрдынеева Даяна Батоевна, старший лаборант лаборатории ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП; аспирант МФТИ;
адрес: 141701, Россия, г. Долгопрудный, Лихачевский проезд 2к1, кв 1016;
телефон: 8(983)430-70-24;
e-mail: daya-na@mail.ru

Daiana B. Erdynееva, Senior Assistant of Laboratory of Angiopathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia; PhD student of Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia;
address: 141701, Russia, Dolgoprudny, Likhachevsky passage, 2k1, 1016
telephone: 8(983)430-70-24;
e-mail: daya-na@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Никифоров Никита Геннадьевич, к.б.н., научный сотрудник лаборатории ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП; младший научный сотрудник Центра коллективного пользования ФГБУН ИБГ РАН;
Nikita G. Nikiforov, PhD, Researcher of Laboratory of Angiopathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia; Junior Researcher of Core Facility Center, Institute of Gene Biology of Russian Academy of Science, Moscow, Russia

Верхова Светлана Сергеевна, старший лаборант лаборатории ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП; аспирант ФГБНУ РНЦХ им. академика Б.В. Петровского;
Svetlana S. Verkhova, Senior Assistant of Laboratory of Angiopathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia; PhD student of Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russia.

Орехов Александр Николаевич, д.б.н., заведующий лаборатории ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП
Alexander N. Orekhov, The Head of Laboratory of Angiopathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia;

Кулагова Т. А., к.б.н., сотрудник лаборатории наноэлектромагнетизма НИИ ЯП БГУ.

Kulagova T. A., Researcher of Laboratory of Nanoelectromagnetism, Research Institute for Nuclear Problems of Belarusian State University, Minsk, Belarus.

Блок 3. Метаданные статьи

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОВ НА ТОЛЕРАНТНОСТЬ МАКРОФАГОВ К
ЛИПОПОЛИСАХАРИДУ
INFLUENCE OF CYTOKINES ON MACROPHAGE TOLERANCE TO
LIROPOLYSACCHARIDE

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ЦИТОКИНЫ И ТОЛЕРАНТНОСТЬ К LPS
CYTOKINES AND LPS TOLERANCE

Ключевые слова: макрофаги, моноциты, толерантность, воспаление, цитокины, липополисахарид, LPS.

Keywords: macrophages, monocytes, tolerance, inflammation, cytokines, lipopolysaccharide, LPS.

Иммунологические чтения в Челябинске 2025.

Количество страниц текста – 6,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 3

29.03.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	DOI.
1	Collins, P. E., & Carmody, R. J. (2015). The Regulation of Endotoxin Tolerance and its Impact on Macrophage Activation. <i>Critical Reviews in Immunology</i> , 35(4), 293–324.	-	https://doi.org/10.1615/CRITREVIMMUNOL.2015015495
2	Ferlito, M., Romanenko, O. G., Ashton, S., Squadrito, F., Halushka, P. V., & Cook, J. A. (2001). Effect of cross-tolerance between endotoxin and TNF- α or IL-1 β on cellular signaling and mediator production. <i>Journal of Leukocyte Biology</i> , 70(5), 821–829.	-	https://doi.org/10.1189/JLB.70.5.821
3	Gillen, J., Ondee, T., Gurusamy, D., Issara-Amphorn, J., Manes, N. P., Yoon, S. H., Leelahavanichkul, A., & Nita-Lazar, A. (2021). LPS Tolerance Inhibits Cellular Respiration and Induces Global Changes in the Macrophage Secretome. <i>Biomolecules</i> , 11(2), 164.	-	https://doi.org/10.3390/BIOM11020164
4	Gorabi, A. M., Kiaie, N., Khosrojerdi, A., Jamialahmadi, T., Al-Rasadi, K., Johnston, T. P., & Sahebkar, A. (2022). Implications for the role of lipopolysaccharide in the development of	-	https://doi.org/10.1016/J.TCM.2021.08.015

	atherosclerosis. Trends in Cardiovascular Medicine, 32(8), 525–533.		
5	Italiani, P., & Boraschi, D. (2014). From monocytes to M1/M2 macrophages: Phenotypical vs. functional differentiation. Frontiers in Immunology, 5(OCT), 116283.	-	https://doi.org/10.3389/FIMMU.2014.00514/PDF
6	Italiani, P., Mazza, E. M. C., Lucchesi, D., Cifola, I., Gemelli, C., Grande, A., Battaglia, C., Bicciato, S., & Boraschi, D. (2014). Transcriptomic Profiling of the Development of the Inflammatory Response in Human Monocytes In Vitro. PLOS ONE, 9(2), e87680.	-	https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0087680
7	Li, H., Breedijk, A., Dietrich, N., Nitschke, K., Jarczyk, J., Nuhn, P., Krämer, B. K., Yard, B. A., Leipe, J., & Hauske, S. (2023). Lipopolysaccharide Tolerance in Human Primary Monocytes and Polarized Macrophages. International Journal of Molecular Sciences 2023, Vol. 24, Page 12196, 24(15), 12196.	-	https://doi.org/10.3390/IJMS241512196
8	Park, S. H., Park-Min, K. H., Chen, J., Hu, X., & Ivashkiv, L. B. (2011). Tumor necrosis factor induces GSK3 kinase-mediated cross-tolerance to endotoxin in macrophages. Nature Immunology 2011 12:7, 12(7), 607–615.	-	https://doi.org/10.1038/ni.2043

9	Quero, L., Hanser, E., Manigold, T., Tiaden, A. N., & Kyburz, D. (2017). TLR2 stimulation impairs anti-inflammatory activity of M2-like macrophages, generating a chimeric M1/M2 phenotype. <i>Arthritis Research & Therapy</i> , 19(1), 245.	-	https://doi.org/10.1186/S13075-017-1447-1
10	Stout, R. D., Jiang, C., Matta, B., Tietzel, I., Watkins, S. K., & Suttles, J. (2005). Macrophages Sequentially Change Their Functional Phenotype in Response to Changes in Microenvironmental Influences. <i>The Journal of Immunology</i> , 175(1), 342–349.	-	https://doi.org/10.4049/JIMMU.NOL.175.1.342
11	Vidyarthi, A., Khan, N., Agnihotri, T., Negi, S., Das, D. K., Aqdas, M., Chatterjee, D., Colegio, O. R., Tewari, M. K., & Agrewala, J. N. (2018). TLR-3 stimulation skews M2 macrophages to M1 through IFN- $\alpha\beta$ signaling and restricts tumor progression. <i>Frontiers in Immunology</i> , 9(JUL), 375809.	-	https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.01650/BIBTEX