

**ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ ПРОФИЛЕЙ МЕТАБОЛИТОВ В КЛЕТКАХ
МИКРОГЛИИ SIM-A9 ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГИПОКСИИ И
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА**

Бобров М. Ю. ¹,
Никитин В. С. ¹,
Бурак М. Ю. ¹,
Афонин М. Б. ¹

¹ Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус» (НТУ «Сириус»).

**EVALUATION OF METABOLITES PROFILES CHANGES IN SIM-A9
MICROGLIAL CELLS UNDER THE INFLUENCE OF HYPOXIA AND
LIPOPOLYSACCHARIDE**

Bobrov M. Yu. ^a,
Nikitin V. S. ^a,
Burak M. Yu. ^a,
Afonin M. B. ^a

^a Sirius University of Science and Technology (Sirius University).

Резюме

В развитии нейровоспаления ведущую роль играют клетки микроглии. Активация микроглии приводит к формированию реактивных фенотипов, которые могут как способствовать развитию нейровоспаления, так и обеспечивать его разрешение. При активации микроглии происходит метаболическое репрограммирование или изменение активности путей метаболизма и содержания метаболитов, поддерживающих тот или иной фенотип. Возможность фенотипического переключения за счет метаболомного репрограммирования может иметь несомненный терапевтический потенциал, однако в настоящее время имеются ограниченные данные об изменении состава метаболитов и активности метаболических путей в клетках микроглии под действием нейровоспалительных факторов. В этой связи, целью данной работы явилось проведение нетаргетного метаболомного исследования для оценки изменений профилей метаболитов в клетках линии микроглии SIM-A9 подвергнутых гипоксии, а также при активации TLR4.

Профилирование метаболитов в экстрактах клеток, подвергнутых действию гипоксии или липополисахарида проводили с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии высокого разрешения, с последующим биоинформатическим анализом данных.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что гипоксическое воздействие, а также стимуляция TLR4 приводят к заметным перестройкам метаболизма клеток микроглии. При этом характер данных перестроек зависит от типа стрессорного воздействия и его длительности. Изменение активности путей метаболизма глутатиона и аргинина может служить маркером поляризации клеток микроглии после гипоксического воздействия. Активация TLR4 под действием липополисахарида приводит к модулированию путей, ассоциированных с энергетическим обменом, а также изменению путей метаболизма ароматических аминокислот.

Можно заключить, что использованный в данной работе подход позволит в дальнейшем исследовать динамику метаболических изменений под действием провоспалительных факторов различной природы и детализировать их роль в метаболическом репрограммировании клеток микроглии на различных этапах развития нейровоспаления.

Ключевые слова: нейровоспаление, гипоксия, микроглия, метаболомика, профилирование метаболитов, масс-спектрометрия.

Abstract

Microglial cells play a leading role in the development of neuroinflammation. Activation of microglia leads to the formation of reactive phenotypes that can both contribute to the development of neuroinflammation and ensure its resolution. Microglia activation is accompanied by metabolic reprogramming or changes in the metabolic pathways activity and the content of specific metabolites supporting a particular phenotype. The possibility of phenotype switching due to metabolomic reprogramming may have undoubted therapeutic potential. However, currently there is limited data on changes in the composition of metabolites and the activity of metabolic pathways in microglial cells under the influence of neuroinflammatory factors. In this regard, the purpose of this work was to conduct a non-targeted metabolomic study to assess changes of metabolites profiles in microglial cell line SIM-A9 exposed to hypoxia, as well as during TLR4 activation.

Metabolite profiling of cell extracts exposed to hypoxia or lipopolysaccharide was performed using high-performance liquid chromatography and high-resolution mass spectrometry, followed by bioinformatics analysis of the data.

The results of the conducted studies indicate that hypoxia, as well as TLR4 stimulation, lead to noticeable changes in the metabolism of microglial cells. At the same time, the nature of these changes depends on the type of stress exposure and its duration. Changes in the activity of glutathione and arginine metabolism pathways can serve as a marker of the polarization of microglial cells after hypoxic exposure. The activation of TLR4 by lipopolysaccharide leads to the modulation of pathways associated with energy metabolism, as well as changes in the metabolic pathways of aromatic amino acids.

It can be concluded that the approach used in this work will allow us to further investigate the dynamics of metabolic changes under the influence of proinflammatory factors of various nature and to detail their role in the metabolic reprogramming of microglial cells at various stages of neuroinflammation.

Keywords: neuroinflammation; hypoxia; microglia; metabolomics; metabolites profiling; mass-spectrometry.

1 Введение

2 Нейровоспаление является одним из ключевых патогенетических
3 факторов повреждения тканей мозга, при гипоксии-ишемии, травме и
4 нейродегенеративных процессах различного генеза. В развитии
5 нейровоспаления ведущую роль играют клетки микроглии, которые являются
6 резидентными макрофагами нервной ткани. Под действием патологических
7 факторов микроглия приобретает реактивные фенотипы, которые могут как
8 способствовать развитию нейровоспаления, так и сдерживать этот процесс,
9 оказывая нейрозащитное действие [6]. Активация клеток микроглии приводит
10 к морфологическому и функциональному разделению на два условных
11 фенотипа: провоспалительный и противовоспалительный [11]. Регуляция
12 баланса между формированием соответствующих фенотипов является одним
13 из ключевых факторов, определяющих глубину поражения нервной ткани под
14 действием нейродеструктивных процессов, в частности при гипоксии-ишемии
15 мозга.

16 Одним из факторов развития указанных фенотипов микроглии является
17 метаболическое репрограммирование или изменение активности
18 метаболических путей для того, чтобы сбалансировать потребность в энергии
19 и строительных блоках в соответствующих условиях [9]. В ряде работ было
20 установлено, что в условиях гипоксии-ишемии указанные фенотипы
21 характеризуются специфическими перестройками метаболизма глюкозы,
22 жирных кислот и ряда аминокислот. Также активно обсуждается роль
23 метаболитов в формировании специфических фенотипов и возможности
24 управления ими за счет модулирования метаболических путей [13]. В этой
25 связи фенотипическое переключение микроглии может иметь несомненный
26 терапевтический потенциал, однако детальные механизмы регуляции данного
27 процесса с участием различных метаболитов остаются мало изученными.

28 При гипоксии-ишемии клетки микроглии одни из первых реагируют на
29 повреждения нервной ткани. Выделяющиеся при разрушении клеток
30 молекулярные паттерны повреждения (DAMPs) запускают активацию
31 микроглии. Среди мишеней DAMPs выделяют Toll-подобные рецепторы
32 (TLR), которые являются молекулами первой линии для инициации
33 врожденных иммунных реакций [1]. Было показано, что TLR4 присутствует
34 на клетках микроглии и его экспрессия повышается в условиях гипоксии, что
35 может стимулировать процессы нейровоспаления за счет активации
36 транскрипционного активатора NF-κB и усиления высвобождения
37 провоспалительных цитокинов [8,14,10]. Таким образом, данные рецепторы
38 играют ключевую роль в развитии нейровоспаления, однако их вклад в
39 возможные метаболические перестройки остается до конца не изученным.

40 Для исследования клеточного метаболизма в последнее время активно
41 используются технологии современной метаболомики. В частности,
42 применение методов масс-спектрометрии позволяет проводить

43 профилирование большого количества метаболитов для комплексной оценки
44 изменений клеточного метаболома [12], что также может способствовать
45 выявлению новых метаболических паттернов, участвующих в процессах
46 нейровоспаления.

47 В настоящее время имеются ограниченные данные об изменении состава
48 метаболитов и активности метаболических путей в клетках микроглии под
49 действием нейровоспалительных факторов. В этой связи, целью данной
50 работы явилось проведение нетаргетного метаболомного исследования для
51 оценки изменений профилей метаболитов в клетках микроглии подвергнутых
52 гипоксии, а также при активации TLR4.

53 2 Материалы и методы

54 Для проведения метаболомных исследований в работе использовались
55 клетки линии микроглии SIM-A9 (ATCC CRL-3265), которая была получена в
56 результате спонтанной трансформации клеток микроглии коры головного
57 мозга мышей линии C57Bl/6. Клетки культивировали в среде DMEM,
58 содержащей аланил-глутамин 200 мМ, HEPES 10 мМ, пенициллин-
59 стрептомицин 0,5%, и 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Клетки
60 инкубировали при 37°C, в присутствии 5% CO₂. Для метаболомных
61 исследований клетки переседали в 6-луночный планшет, 1*10⁶ клеток на
62 лунку. На следующий день клетки подвергались гипоксии или
63 инкубировались в присутствии липополисахарида. Гипоксию проводили в
64 мини инкубаторе, соединенном с модулем регулируемой подачи газов
65 (ОкоLab) при температуре 37°C. Для этого клеточные среды удаляли, клетки
66 промывали раствором Хэнкса без глюкозы, и далее инкубировали в этом
67 растворе в условиях гипоксии (O₂ 1%) 30 мин или 1 час. Далее клетки
68 возвращали в кондиционированные среды и проводили реоксигенацию 1 и 3
69 часа. Клетки также инкубировали в присутствии липополисахарида (LPS) 100
70 нг/мл в течении 1 и 3 часов. После стрессорных воздействий проводили
71 экстракцию метаболитов. Для этого клетки промывали фосфатно-солевым
72 буферным раствором, затем добавляли 800 мкл ледяной смеси метанол/вода
73 (80/20). Клетки снимали скребком, после чего полученную суспензию
74 переносили в пробирки, тщательно перемешивали и помещали в
75 ультразвуковую баню на 20 секунд, затем помещали в лед. Манипуляции
76 повторяли три раза. Далее клеточный дебрис осаждали центрифугированием
77 20 минут, 20000g при 4°C. Супернатант переносили в новые пробирки и
78 лиофилизировали в вакуумном концентраторе при температуре 45°C, после
79 чего добавляли 40 мкл 80% метанола в воде.

80 Профили метаболитов получали в результате анализа образцов методом
81 высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим
82 детектированием молекулярных ионов. Для этого использовали
83 хроматографическую систему (UltiMate 3000, Thermo Scientific), сопряженную
84 с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометром высокого разрешения

85 (Bruker maXis II 4G ETD). Хроматографию проводили на колонке ACE Excel
86 100x2.1мм 1.7 μm C18-PFP EXL-1710-1002U с предколонкой Waters ACQUITY
87 UPLC Peptide CSH C18 VanGuard Pre-column, 130Å, 1.7 μm , 2.1 mm x 5 mm. В
88 качестве подвижной фазы «А» использовалась деионизованная вода,
89 подвижной фазы «В» - ацетонитрил. Обе фазы содержали в качестве
90 модификатора 0,1% муравьиной кислоты. Элюирование производилось в
91 градиенте подвижной фазы «В» при скорости потока 350 мкл/мин: 0-3 мин -
92 2%, 3-13 мин градиент 2-95%; 13-14,8 мин - 95 % фазы «В», 14,8-15 мин – 2%
93 фазы «В», после чего в течение 1 минуты возвращалась исходная
94 концентрация фазы «В». Масс-спектры получали при разрешении 50000 в
95 диапазоне 50–1500 m/z, в режиме положительных ионов.

96 Детектирование пиков, их группировка и коррекция времени
97 удерживания проводилась с помощью программного пакета MARS (Molecular
98 Discovery Ltd). Для поиска и визуализации наибольших различий между
99 группами сравнения использовали метод многомерной статистики —
100 дискриминантный анализ ортогональных частичных наименьших квадратов
101 (OPLS-DA) с помощью пакета программ платформы Metaboanalyst v6.0
102 (www.metaboanalyst.ca). В данной работе проводилось нетаргетное
103 метаболомное исследование, поэтому полученные после предобработки
104 данные также анализировались с помощью алгоритма «tummichog» на
105 платформе сервисов MetaboAnalyst 6.0 для обогащения метаболитических путей
106 по молекулярным ионам, внесшим вклад в формирование отличий между
107 группами сравнения. Даже при высокой точности определения массы,
108 обеспечиваемой современными платформами масс-спектрометрии высокого
109 разрешения, зачастую невозможно однозначно идентифицировать
110 соединение, основываясь только на отношении его массы к заряду. Чтобы
111 обойти эту проблему, ключевой концепцией является смещение анализа с
112 отдельных соединений на пути или группу функционально родственных
113 соединений, то есть наборов метаболитов. Общее предположение концепции
114 состоит в том, что поведение группы более устойчиво к определенной степени
115 случайных ошибок для отдельных компонентов. Алгоритм «tummichog»
116 является первой реализацией этой концепции, позволяющей сделать вывод об
117 активности путей по ранжированному списку пиков молекулярных ионов,
118 идентифицированных с помощью нецелевой метаболомики, с учетом времен
119 хроматографического разделения [5]. Оригинальный алгоритм реализует
120 метод анализа перепредставленности для оценки обогащения на уровне путей
121 на основе значимых признаков. Если набор признаков содержал соединения с
122 несколькими вариантами идентификации, для каждого варианта
123 идентификации создавались новые наборы переменных, каждый из которых
124 содержал один из вариантов. В этом случае пути считались статистически
125 значимыми, если p было меньше 0,1 для каждого набора соединений. Значения
126 обогащения и вероятность наблюдения усреднялись по всем наборам, и
127 вычислялось медианное значение количества соединений в каждом пути.
128 Идентификация соединений проводилась по базам данных KEGG

129 (www.genome.jp). В результате выполнения алгоритма по соответствующему
130 набору данных формируется список обогащенных путей, включающий
131 информацию об общем количестве известных метаболитов в пути, количестве
132 идентифицированных метаболитов пути в данном наборе данных и
133 значимости обогащения с использованием критерия Фишера.

134 Анализ экспрессии цитокинов TNF и IL6 проводили методом ПЦР в
135 реальном времени. Для выделения тотальной РНК, проведения обратной
136 транскрипции и постановки ПЦР использовали коммерческие наборы
137 компании Evrogen. Данные по кратности изменения экспрессии получали
138 методом дельта-дельта Ct, с использованием в качестве референса ген HPRT.

139 3 Результаты и обсуждение

140 Инкубация клеток микроглии в условиях гипоксии в течении 1 часа с
141 последующей реоксигенацией в течении 3 часов приводило к заметному
142 усилению экспрессии TNF и IL6 (Рис. 1А). При нахождении в условиях
143 гипоксии в течении 30 мин с последующей реоксигенацией 1 и 3 часа,
144 изменений в экспрессии обоих цитокинов не наблюдалось (данные не
145 приведены). Стимуляция LPS в течении 1 и 3 часов также приводила к
146 повышению экспрессии TNF и IL6 (Рис. 1А). Полученные данные
147 свидетельствуют об активации клеток микроглии под воздействием
148 используемых стрессорных факторов. Временные интервалы активации
149 клеток были учтены при профилировании метаболитов.

150 Далее проводили оценку изменения профилей метаболитов в клетках
151 микроглии под воздействием гипоксии и LPS. Обработка данных ВЭЖХ-МС
152 анализа клеточных экстрактов методом многомерной статистики (OPLS-DA)
153 выявила четкую кластеризацию в группах сравнения (Рис. 1Б). Данные
154 свидетельствует о том, что гипоксическое воздействие и стимуляция LPS
155 приводят к существенным изменениям в профилях метаболитов, в сравнении
156 с интактными контролями. Далее полученные профили молекулярных ионов
157 использовали для обогащения метаболических путей. Результаты обогащения
158 по всем группам сравнения приведены в Таблице 1. В таблице указаны
159 названия обогащенных путей, общее количество метаболитов в пути,
160 количество идентифицированных метаболитов и значение вероятности
161 принятия нулевой гипотезы, полученное с использованием критерия Фишера.
162 В условиях гипоксии продолжительностью 30 мин наиболее вероятные
163 обогащения наблюдались по путям метаболизма глутатиона и арахидоновой
164 кислоты. При часовой гипоксии и реоксигенации 1 час также обогащался путь
165 метаболизма глутатиона, тогда как после трехчасовой реоксигенации
166 обогащение наблюдается по путям метаболизма ряда аминокислот.

167 В результате стимуляции клеток микроглии LPS в течении часа,
168 изменения профиля метаболитов привели к обогащению путей, связанных с
169 циклом трикарбоновых кислот, метаболизма бутаноата и ряда аминокислот.

170 После трехчасового воздействия LPS наблюдалось переключение
171 обогащаемых путей на метаболизм аминокислот: триптофана, фенилаланина
172 и тирозина.

173 Глутатион является эндогенным антиоксидантом, участвует в
174 метаболизме арахидоновой кислоты, оказывает иммуномодулирующее
175 действие, а также играет важную роль в поддержании гомеостаза нервной
176 ткани [4]. Обогащение по пути метаболизма глутатиона, по-видимому, связано
177 с развитием окислительного стресса в результате гипоксии-реоксигенации.
178 Восстановленный глутатион совместно с ферментом глутатионпероксидазой
179 являются важными компонентами антиоксидантной системы клетки,
180 участвующей в нейтрализации активных форм кислорода, которые являются
181 одним из факторов формирования провоспалительного фенотипа клеток
182 микроглии [12]. Метаболизм аргинина играет важную роль в формировании
183 реактивных форм микроглии, поскольку может быть субстратом для фермента
184 аргиназы-1 и синтазы оксида азота, характерных для противо- и
185 провоспалительных фенотипов микроглии, соответственно [9]. Таким
186 образом, изменение активности пути метаболизма глутатиона и аргинина
187 может служить маркером поляризации клеток микроглии после
188 гипоксического воздействия.

189 В условиях нормоксии, при короткой стимуляции (1 ч) TLR4
190 липополисахаридом, наблюдалось обогащение метаболических путей,
191 свидетельствующее о значительных перестройках энергетического
192 метаболизма. В частности, наблюдалось обогащение по путям превращений
193 цикла трикарбоновых кислот. Ранее сообщалось, что TLR4 имеет решающее
194 значение для активации микроглии и регуляции нейровоспаления. Его
195 активация приводит к глюконеогенному репрограммированию и увеличению
196 выработки лактата, ингибированию сукцинатдегидрогеназы и снижению
197 активности цикла трикарбоновых кислот [7]. При более продолжительной
198 стимуляции LPS наблюдалось изменение паттернов метаболических путей, с
199 обогащением по путям метаболизма ароматических аминокислот. В
200 частности, окислительный метаболизм триптофана может проходить по
201 кинуриновому пути при участии фермента индоламиндеоксигеназы (IDO),
202 экспрессия которого усиливается под действием LPS и провоспалительных
203 цитокинов. Усиление активности IDO, приводит к продукции активных форм
204 кислорода, что также может способствовать снижению восстановленного
205 глутатиона. Образование кинуренина и других метаболитов может оказывать
206 иммуномодулирующее действие, однако дальнейшие превращения могут
207 приводить к повышению продукции NAD⁺, необходимого для поддержания
208 окислительно-восстановительного баланса клетки в условиях
209 нейровоспаления [3].

210 4 Выводы

211 Повышение экспрессии провоспалительных цитокинов под действием
212 гипоксии и липополисахарида свидетельствует об активации клеток линии
213 микроглии SIM-A9.

214 Изменение активности путей метаболизма глутатиона и аргинина может
215 служить маркером поляризации клеток микроглии после гипоксического
216 воздействия.

217 Активация TLR4 под действием липополисахарида приводит к
218 модулированию путей, ассоциированных с энергетическим обменом, а также
219 изменению путей метаболизма ароматических аминокислот.

220 **5 Заключение**

221 Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что
222 провоспалительные стимулы приводят к заметным перестройкам метаболизма
223 клеток микроглии. При этом характер данных перестроек зависит от типа
224 стрессорного воздействия и его длительности. Можно заключить, что
225 использованный в данной работе подход позволит в дальнейшем исследовать
226 динамику метаболических изменений под действием провоспалительных
227 факторов различной природы и детализировать их роль в метаболическом
228 репрограммировании клеток микроглии на различных этапах развития
229 нейровоспаления.

230 **Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта
231 Российского научного фонда № 24-25-20146.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Обогащение метаболических путей по данным профилирования метаболитов в клетках линии микроглии SIM-A9.

Table 1. Enrichment of metabolic pathways according to metabolite profiling in SIM-A 9 cells.

Метаболические пути Metabolic pathways	Количество метаболитов в пути Pathway total	Количество выявленных метаболитов Hits total	P (критерий Фишера) P (Fisher's test)
<i>Гипоксия 30 мин, реоксигенация 1 час</i> <i>Hypoxia 30 min, reoxygenation 1 h</i>			
Метаболизм пуринов Purine metabolism	71	9	0,077
Метаболизм глутатиона Glutathione metabolism	19	5	0,077
Метаболизм пиримидинов Pyrimidine metabolism	39	3	0,233
<i>Гипоксия 30 мин, реоксигенация 3 часа</i> <i>Hypoxia 30 min, reoxygenation 3 h</i>			
Метаболизм глутатиона Glutathione metabolism	19	5	0,011
Метаболизм арахидоновой кислоты Arachidonic acid metabolism	42	13	0,045
Метаболизм глицина, серина, треонина Glycine, serine and threonine metabolism	31	6	0,098
<i>Гипоксия 1 час, реоксигенация 1 час</i> <i>Hypoxia 1 h, reoxygenation 1 h</i>			

Метаболизм глутатиона Glutathione metabolism	19	5	0,043
Метаболизм аланина, аспартата, глутамата Alanine, aspartate and glutamate metabolism	28	2	0,083
Метаболизм тирозина Tyrosine metabolism	42	2	0,083
<i>Гипоксия 1 час, реоксигенация 3 часа</i> <i>Hypoxia 1 h, reoxygenation 3 h</i>			
Метаболизм глутатиона Glutathione metabolism	19	6	0,000018
Метаболизм D-аминокислот D-Amino acid metabolism	15	8	0,000137
Метаболизм аргинина и пролина Arginine and proline metabolism	35	7	0,004
<i>LPS 1 час</i> <i>LPS 1 h</i>			
Цикл трикарбонновых кислот Citrate cycle (TCA cycle)	16	7	0,002
Метаболизм бутаноата Butanoate metabolism	15	8	0,020
Метаболизм аланина, аспартата, глутамата Alanine, aspartate and glutamate metabolism	28	13	0,024
<i>LPS 3 час</i> <i>LPS 3 h</i>			
Метаболизм триптофана Tryptophan metabolism	41	5	0,002
Метаболизм фенилаланина Phenylalanine metabolism	10	8	0,025

Метаболизм тирозина Tyrosine metabolism	42	12	0,044
--	----	----	-------

РИСУНКИ

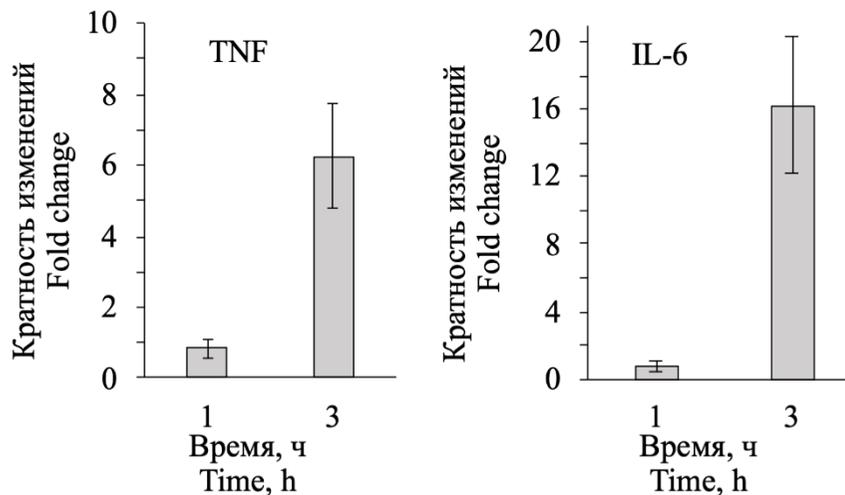
Рисунок 1. А) Изменение экспрессии цитокинов TNF и IL6 в клетках микроглии под действием гипоксии-реоксигенации и липополисахарида. Продолжительность гипоксии 1 ч, реоксигенации 1 и 3 ч, соответственно. Время инкубации с LPS (100 нг/мл) 1 и 3 часа, соответственно.

Б) Оценка отличий профилей метаболитов в группах сравнения методом дискриминантного анализа ортогональных частичных наименьших квадратов (OPLS-DA). Группы сравнения: 1 – гипоксия 1 ч, реоксигенация 1ч, 2 – гипоксия 1 ч, реоксигенация 3 ч; 3 и 4 – инкубация с липополисахаридом 1 и 3 часа, соответственно; круги (o) - образцы клеток после воздействия, треугольники (Δ) – образцы клеток без воздействий.

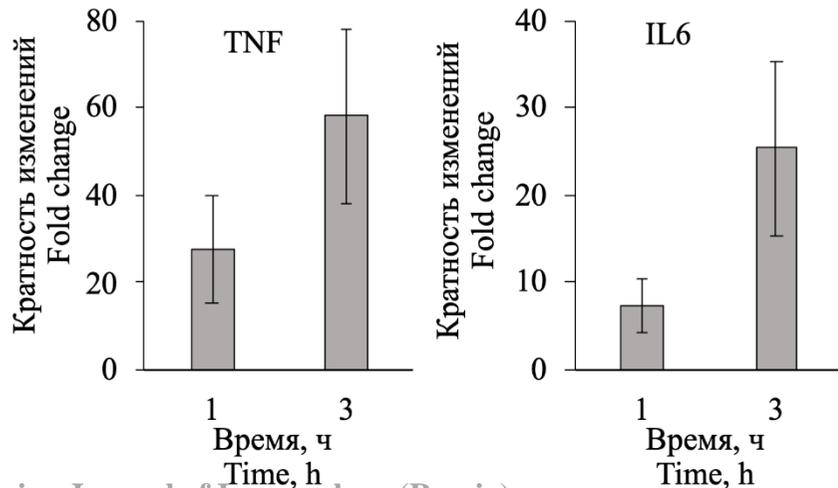
Figure 1. A) Changes in the expression of TNF and IL6 cytokines in microglial cells under the influence of hypoxia-reoxygenation and lipopolysaccharide. The duration of hypoxia is 1 hour, reoxygenation is 1 and 3 hours, respectively. Incubation time with LPS (100 ng/ml) is 1 and 3 hours, respectively.

B) Evaluation of differences in the profiles of metabolites in the comparison groups by discriminant analysis of orthogonal partial least squares (OPLS-DA). Comparison groups: 1 – hypoxia for 1 hour, reoxygenation for 1 hour, 2 – hypoxia for 1 hour, reoxygenation for 3 hours; 3 and 4 – incubation with lipopolysaccharide for 1 and 3 hours, respectively; circles (o) - samples of cells after exposure, triangles (Δ) - samples of cells without exposure.

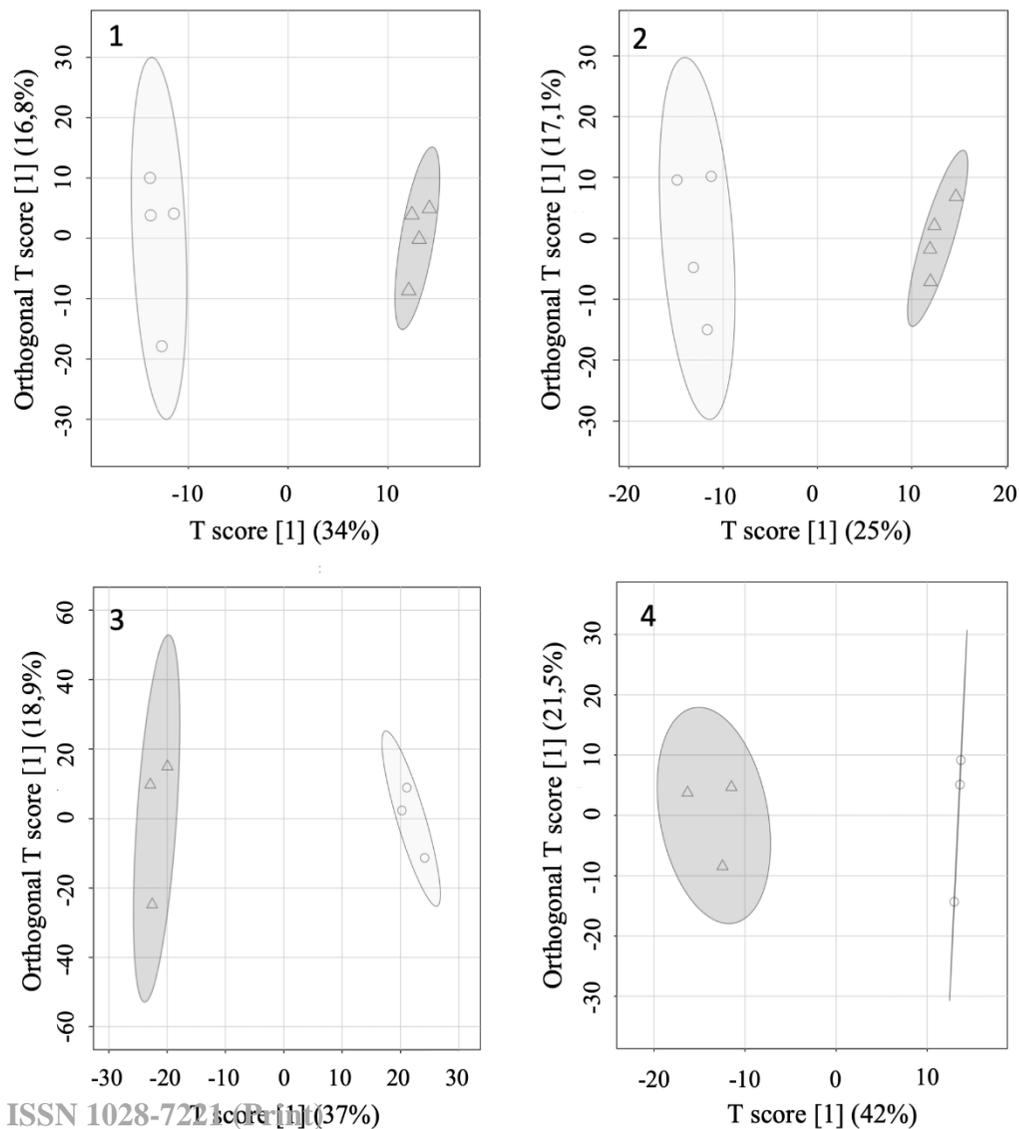
А. Гипоксия-реоксигенация
Hypoxia-reoxygenation



Липополисахарид
Lipopolysaccharide



Б. Анализ OPLS-DA
OPLS-DA analysis



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Бобров Михаил Юрьевич, Кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник;

адрес: 354340, Российская Федерация, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., д.1, Направление «Иммунобиология и биомедицина»;

телефон: 89032518677;

email: bobrov.my@talantiuspeh.ru

Bobrov Mikhail, PhD, Leading Researcher;

telephone: 89032518677;

email: bobrov.my@talantiuspeh.ru

Блок 2. Информация об авторах

Никитин Вадим Сергеевич, Лаборант-исследователь, студент магистратуры НТУ «Сириус»;

Nikitin Vadim, Laboratory researcher, graduate student of Sirius University;

Бурак Марина Юрьевна, Лаборант-исследователь, студент магистратуры НТУ «Сириус»;

Burak Marina, Laboratory researcher, graduate student of Sirius University;

Афонин Михаил Борисович, Главный инженер-исследователь ресурсного центра аналитических методов НТУ «Сириус»;

Afonin Mikhail, Chief Research Engineer at the Analytical Methods Resource Center;

Блок 3. Метаданные статьи

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ ПРОФИЛЕЙ МЕТАБОЛИТОВ В КЛЕТКАХ
МИКРОГЛИИ SIM-A9 ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГИПОКСИИ И
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

EVALUATION OF METABOLITES PROFILES CHANGES IN SIM-A9
MICROGLIAL CELLS UNDER THE INFLUENCE OF HYPOXIA AND
LIPOPOLYSACCHARIDE

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ПРОФИЛИРОВАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ SIM-A9

SIM-A9 METABOLITE PROFILING

Ключевые слова: нейровоспаление, гипоксия, микроглия, метаболомика,
профилирование метаболитов, масс-спектрометрия.

Keywords: neuroinflammation; hypoxia; microglia; metabolomics; metabolites
profiling; mass-spectrometry.

Иммунологические чтения в Челябинске.

Количество страниц текста – 6,

Количество таблиц – 1,

Количество рисунков – 1.

31.03.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядко-вый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Chen B., Di B. Endogenous Ligands of TLR4 in Microglia: Potential Targets for Related Neurological Diseases. <i>Curr Drug Targets.</i> , 2024, Vol. 25, no. 14, pp. 953-970.	-	doi: 10.2174/0113894501316051240821060249
2	Fan H., Bai Q., Yang Y., Shi X., Du G., Yan J., Shi J., Wang D. The key roles of reactive oxygen species in microglial inflammatory activation: Regulation by endogenous antioxidant system and exogenous sulfur-containing compounds. <i>Eur J Pharmacol.</i> , 2023, Vol. 956:175966.	-	doi: 10.1016/j.ejphar.2023.175966
3	Hestad K., Alexander J., Rootwelt H., Aaseth J.O. The Role of Tryptophan Dysmetabolism and Quinolinic Acid in Depressive and Neurodegenerative Diseases. <i>Biomolecules.</i> , 2022, Vol. 12, no. 7, pp. 998.	-	doi: 10.3390/biom12070998
4	Iskusnykh I.Y., Zakharova A.A., Pathak D. Glutathione in Brain Disorders and Aging. <i>Molecules.</i> , 2022, Vol. 27, no. 1, pp 324.	-	doi: 10.3390/molecules27010324.

5	Li S., Park Y., Duraisingham S., Strobel F.H., Khan N., Soltow Q.A., Jones D.P., Pulendran B. Predicting Network Activity from High Throughput Metabolomics. PLoS Comput Biol., 2013, Vol 9, no. 7, pp. e1003123.	-	doi: 10.1371/journal.pcbi.1003123
6	Liu Y., Wu L., Peng W., Mao X. Glial polarization in neurological diseases: Molecular mechanisms and therapeutic opportunities. Ageing Res Rev., 2025, Vol. 104:102638, pp 1-27.	-	doi: 10.1016/j.arr.2024.102638
7	Nair S., Sobotka K.S., Joshi P., Gressens P., Fleiss B., Thornton C., Mallard C., Hagberg H. Lipopolysaccharide-induced alteration of mitochondrial morphology induces a metabolic shift in microglia modulating the inflammatory response in vitro and in vivo. Glia., 2019, Vol. 67, no. 6, pp. 1047–1061.	-	doi: 10.1002/glia.23587
8	Ock J., Jeong J., Choi W.S., Lee W.H., Kim S.H., Kim I.K., Suk K. Regulation of Toll-like receptor 4 expression and its signaling by hypoxia in cultured microglia. J Neurosci Res., 2007, Vol. 85, pp. 1989–1995.	-	doi: 10.1002/jnr.21322
9	Rana A.K., Bhatt B., Gusain C., Biswal S.N., Das D., Kumar M. Neuroimmunometabolism: how metabolism orchestrates immune response in healthy and diseased brain. Am J Physiol Endocrinol Metab., 2025, Vol. 328, no 2, pp. E217-E229.	-	doi: 10.1152/ajpendo.00331.2024

10	Tyrtyschnaia A, Konovalova S, Bondar A, Ermolenko E, Sultanov R, Manzhulo I. Anti-Inflammatory Activity of N-Docosahexaenoylethanolamine and N-Eicosapentaenoylethanolamine in a Mouse Model of Lipopolysaccharide - Induced Neuroinflammation. <i>Int J Mol Sci.</i> , 2021, Vol. 22, no. 19, pp. 10728.	-	doi: 10.3390/ijms221910728
11	Wang Y., Leak R.K., Cao G. Microglia-mediated neuroinflammation and neuroplasticity after stroke. <i>Front. Cell. Neurosci.</i> , 2022, Vol. 16, pp. 980722.	-	doi: 10.3389/fncel.2022.980722
12	Wang Z., Zhu H., Xiong W. Advances in mass spectrometry-based multi-scale metabolomic methodologies and their applications in biological and clinical investigations. <i>Sci Bull (Beijing)</i> ., 2023, Vol. 68, no. 19, pp. 2268-2284.	-	doi: 10.1016/j.scib.2023.08.047.
13	Yang S., Qin C., Hu Z.W., Zhou L.Q., Yu H.H., Chen M., Bosco D.B., Wang W., Wu L.J., Tian D.S. Microglia reprogram metabolic profiles for phenotype and function changes in central nervous system. <i>Neurobiol Dis.</i> , 2021, Vol. 152:105290.	-	doi: 10.1016/j.nbd.2021.105290
14	Yao L., Kan E.M., Lu J., Hao A., Dheen S.T., Kaur C., Ling E.A. Toll-like receptor 4 mediates microglial activation and production of inflammatory mediators in neonatal rat brain following hypoxia: role of TLR4 in hypoxic microglia. <i>J Neuroinflammation.</i> , 2013, Vol. 10, no. 23, pp. 1-21.	-	doi: 10.1186/1742-2094-10-23.

