Российский иммунологический журнал
2025, Т. 28, № 3, стр. 553-560

Краткие сообщения
Short communications

Russian Journal of Immunology / Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal
2025, Vol. 28, № 3, pp. 553-560

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

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

АНОО ВО «Научно-технологический университет “Сириус”», пгт Сириус, Краснодарский край, Россия

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 репрограммирования клеток микроглии на различных этапах развития нейровоспаления.

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

Адрес для переписки:
Бобров Михаил Юрьевич
АНОО ВО «Научно-технологический университет “Сириус”»
354349, Россия, Краснодарский край, пгт Сириус, Олимпийский пр., 1.
Тел.: 8 (903) 251-86-77.
E-mail: bobrov.my@talantiuspeh.ru

Address for correspondence:
Mikhail Yu. Bobrov
Sirius University of Science and Technologies
1 Olympic Ave
Sirius settlement, Krasnodar Region
354349 Russian Federation
Phone: +7 (903) 251-86-77.
E-mail: bobrov.my@talantiuspeh.ru

Образец цитирования:
М.Ю. Бобров, В.С. Никитин, М.Ю. Бурак, М.Б. Афонин «Оценка изменений профилей метаболитов в клетках микроглии SIM-A9 под действием гипоксии и липополисахарида» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 3. С. 553-560.
doi: 10.46235/1028-7221-17212-EOC

© Бобров М.Ю. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:
M.Yu. Bobrov, V.S. Nikitin, M.Yu. Burak, M.B. Afonin “Evaluation of changed metabolite profiles in SIM-A9 microglial cells under the influence of hypoxia and lipopolysaccharide”, Russian Journal of Immunology/ Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 3, pp. 553-560.
doi: 10.46235/1028-7221-17212-EOC

© Bobrov M.Yu. et al., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17212-EOC

EVALUATION OF CHANGED METABOLITE PROFILES IN SIM-A9 MICROGLIAL CELLS UNDER THE INFLUENCE OF HYPOXIA AND LIPOPOLYSACCHARIDE

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

Sirius University of Science and Technologies, Sirius settlement, Krasnodar Region, Russian Federation

Abstract. Microglial cells play a leading role in 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 relief. Microglia activation is accompanied by metabolic reprogramming or changes in the metabolic pathways activity and the content of specific metabolites supporting a particular phenotype. An opportunity of phenotype switching due to metabolomic reprogramming may have real therapeutic potential. However, currently there are limited data on changes in composition of metabolites and 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 performed studies have shown 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. Changed activity of glutathione and arginine metabolic pathways may serve as a marker of the polarization of microglial cells after hypoxic exposure. The activation of TLR4 by lipopolysaccharide leads to modulation of pathways associated with energy metabolism, as well as changes in the metabolic pathways of aromatic amino acids. One may suggest that the analytic approach used in this work will allow us to further investigate the dynamics of metabolic changes under the influence of proinflammatory factors of various origin and to gain detailed data on their role in metabolic reprogramming of microglial cells at various stages of neuroinflammation.

Keywords: neuroinflammation, hypoxia, microglia, metabolomics, metabolite profiling, mass spectrometry

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 24-25-20146.

Введение

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

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

При гипоксии-ишемии клетки микроглии одни из первых реагируют на повреждения

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

Для исследования клеточного метаболизма в последнее время активно используются технологии современной метаболомики. В частности, применение методов масс-спектрометрии позволяет проводить профилирование большого количества метаболитов для комплексной оценки изменений клеточного метаболома [12], что также может способствовать выявлению новых метаболических паттернов, участвующих в процессах нейровоспаления.

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 микроглии, подвергнутых гипоксии, а также при активации TLR4.

Материалы и методы

Для проведения метаболомных исследований в работе использовались клетки линии микроглии SIM-A9 (ATCC CRL-3265), которая была получена в результате спонтанной трансформации клеток микроглии коры головного мозга мышей линии C57Bl/6. Клетки культивировали в среде DMEM, содержащей аланил-глутамин 200 мМ, HEPES 10 мМ, пенициллин-стрептомицин 0,5%, и 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Клетки инкубировали при 37 °C, в присутствии 5% CO_2. Для метаболомных исследований клетки пересевали в 6-луночный планшет, 1×10^6 клеток на лунку. На следующий день клетки подвергались гипоксии или инкубировались в присутствии липополисахарида. Гипоксию проводили в миниинкубаторе, соединенном с модулем регулируемой подачи газов (OkoLab) при температуре 37 °C. Для этого клеточные среды удаляли, клетки промывали раствором Хэнкса без глюкозы и далее инкубировали в этом растворе в условиях гипоксии (O_2 1%) 30 мин или 1 час. Далее клетки возвращали в кондиционированные среды и проводили реоксигенацию 1 и 3 часа. Клетки также инкубировали в присутствии липополисахарида (LPS) 100 нг/мл в течение 1 и 3 часов. После стрессорных воздействий проводили экстракцию метаболитов. Для этого клетки промывали фосфатно-солевым буферным раствором, затем добавляли 800 мкл ледяной смеси метанол/вода (80/20). Клетки снимали скребком, после чего полученную суспензию переносили в пробирки, тщательно перемешивали и помещали в ультразвуковую баню на 20 секунд, затем помещали в лед. Манипуляции повторяли три раза. Далее клеточный дебрис осаждали центрифугированием 20 минут, 20 000 g при 4 °C. Супернатант переносили в новые пробирки и лиофилизировали в вакуумном концентраторе при температуре 45 °C, после чего добавляли 40 мкл 80% метанола в воде.

Профили метаболитов получали в результате анализа образцов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием молекулярных ионов. Для этого использовали хроматографическую систему (UltiMate 3000, Thermo Scientific, США), сопряженную с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометром высокого разрешения (Bruker maXis II 4G ETD). Хроматографию проводили на колонке ACE Excel 100 × 2,1 мм 1,7 мкм C18-PFP EXL-1710-1002U с предколонкой Waters ACQUITY UPLC Peptide CSH C18 VanGuard Pre-column, 130Å, 1,7 мкм, 2,1 мм × 5 мм. В качестве подвижной фазы «A» использовалась деионизованная вода, подвижной фазы «B» – ацетонитрил. Обе фазы содержали в качестве модификатора 0,1% муравьиной кислоты. Элюирование производилось в градиенте подвижной фазы «B» при скорости потока 350 мкл/мин: 0-3 мин – 2%, 3-13 мин градиент 2-95%; 13-14,8 мин – 95% фазы «B», 14,8-15 мин – 2% фазы «B», после чего в течение 1 минуты возвращалась исходная концентрация фазы «B». Масс-спектры получали при разрешении 50 000 в диапазоне 50-1500 m/z, в режиме положительных ионов.

Детектирование пиков, их группировка и коррекция времени удерживания проводилась с помощью программного пакета MARS (Molecular Discovery Ltd, Великобритания). Для поиска и визуализации наибольших различий между группами сравнения использовали метод многомерной статистики – дискриминантный анализ ортогональных частичных наименьших квадратов (OPLS-DA) с помощью пакета программ плат-

формы Metaboanalyst v6.0 (www.metaboanalyst.ca). В данной работе проводилось нетаргетное метаболомное исследование, поэтому полученные после предобработки данные также анализировались с помощью алгоритма mummichog на платформе сервисов MetaboAnalyst 6.0 для обогащения метаболических путей по молекулярным ионам, внесшим вклад в формирование отличий между группами сравнения. Даже при высокой точности определения массы, обеспечиваемой современными платформами масс-спектрометрии высокого разрешения, зачастую невозможно однозначно идентифицировать соединение, основываясь только на отношении его массы к заряду. Чтобы обойти эту проблему, ключевой концепцией является смещение анализа с отдельных соединений на пути или группу функционально родственных соединений, то есть наборов метаболитов. Общее предположение концепции состоит в том, что поведение группы более устойчиво к определенной степени случайных ошибок для отдельных компонентов. Алгоритм mummichog является первой реализацией этой концепции, позволяющей сделать вывод об активности путей по ранжированному списку пиков молекулярных ионов, идентифицированных с помощью нецелевой метаболомики, с учетом времен хроматографического разделения [5]. Оригинальный алгоритм реализует метод анализа перепредставленности для оценки обогащения на уровне путей на основе значимых признаков. Если набор признаков содержал соединения с несколькими вариантами идентификации, для каждого варианта идентификации создавались новые наборы переменных, каждый из которых содержал один из вариантов. В этом случае пути считались статистически значимыми, если p было меньше 0,1 для каждого набора соединений. Значения обогащения и вероятность наблюдения усреднялись по всем наборам, и вычислялось медианное значение количества соединений в каждом пути. Идентификация соединений проводилась по базам данных KEGG (www.genome.jp). В результате выполнения алгоритма по соответствующему набору данных формируется список обогащенных путей, включающий информацию об общем количестве известных метаболитов в пути, количестве идентифицированных метаболитов пути в данном наборе данных и значимости обогащения с использованием критерия Фишера.

Анализ экспрессии цитокинов TNF и IL-6 проводили методом ПЦР в реальном времени. Для выделения тотальной РНК, проведения обратной транскрипции и постановки ПЦР использовали коммерческие наборы компании Evrogen. Данные по кратности изменения экспрессии получали методом дельта-дельта Ct, с использованием в качестве референса ген HPRT.

Результаты и обсуждение

Инкубация клеток микроглии в условиях гипоксии в течение 1 часа с последующей реоксигенацией в течение 3 часов приводили к заметному усилению экспрессии TNF и IL-6 (рис. 1А). При нахождении в условиях гипоксии в течение 30 мин с последующей реоксигенацией 1 и 3 часа, изменений в экспрессии обоих цитокинов не наблюдалось (данные не приведены). Стимуляция LPS в течение 1 и 3 часов также приводила к повышению экспрессии TNF и IL-6 (рис. 1А). Полученные данные свидетельствуют об активации клеток микроглии под воздействием используемых стрессорных факторов. Временные интервалы активации клеток были учтены при профилировании метаболитов.

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

В результате стимуляции клеток микроглии LPS в течение часа изменения профиля метаболитов привели к обогащению путей, связанных с циклом трикарбоновых кислот, метаболизма бутаноата и ряда аминокислот. После трехчасового воздействия LPS наблюдалось переключение обогащаемых путей на метаболизм аминокислот: триптофана, фенилаланина и тирозина.

Глутатион является эндогенным антиоксидантом, участвует в метаболизме арахидоновой

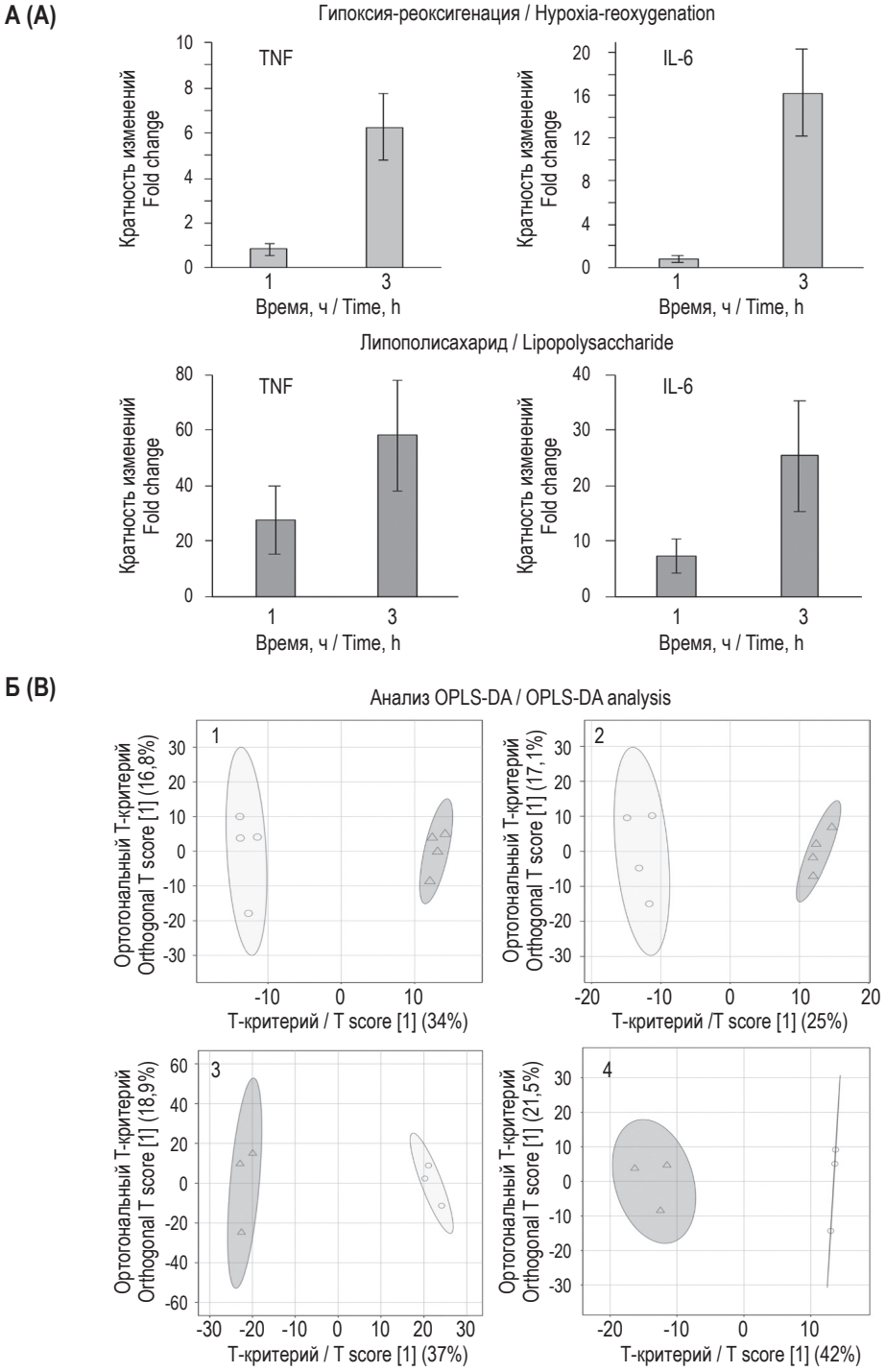

Рисунок 1. А – изменение экспрессии цитокинов TNF и IL-6 в клетках микроглии под действием гипоксии-реоксигенации и липополисахарида. Продолжительность гипоксии 1 ч, реоксигенации 1 и 3 ч соответственно. Время инкубации с LPS (100 нг/мл) 1 и 3 час соответственно. Б – оценка отличий профилей метаболитов в группах сравнения методом дискриминантного анализа ортогональных частичных наименьших квадратов (OPLS-DA). Группы сравнения: 1 – гипоксия 1 ч, реоксигенация 1 ч, 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

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)
Гипоксия 30 мин, реоксигенация 1 час Hypoxia 30 min, reoxygenation 1 h			
Метаболизм пуринов Purine metabolism	71	9	0,077
Метаболизм глутатиона Glutathione metabolism	19	5	0,077
Метаболизм пиримидинов Pyrimidine metabolism	39	3	0,233
Гипоксия 30 мин, реоксигенация 3 часа Hypoxia 30 min, reoxygenation 3 h			
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
Гипоксия 1 час, реоксигенация 1 час Hypoxia 1 h, reoxygenation 1 h			
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
Гипоксия 1 час, реоксигенация 3 часа Hypoxia 1 h, reoxygenation 3 h			
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
LPS 1 час LPS 1 h			
Цикл трикарбоновых 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
LPS 3 час LPS 3 h			
Метаболизм триптофана Tryptophan metabolism	41	5	0,002
Метаболизм фенилаланина Phenylalanine metabolism	10	8	0,025
Метаболизм тирозина Tyrosine metabolism	42	12	0,044

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

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

Выводы

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

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.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что провоспалительные стимулы приводят к заметным перестройкам метаболизма клеток микроглии. При этом характер данных перестроек зависит от типа стрессорного воздействия и его длительности. 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 репрограммирования клеток микроглии на различных этапах развития нейровоспаления.

Список литературы / References

1. Chen B., Di B. Endogenous Ligands of TLR4 in microglia: potential targets for related neurological diseases. *Curr. Drug Targets, 2024, Vol. 25, no. 14, pp. 953-970.*
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. *Eur. J. Pharmacol., 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. *Biomolecules, 2022, Vol. 12, no. 7, 998.* doi: 10.3390/biom12070998.
4. Iskusnykh I.Y., Zakharova A.A., Pathak D. Glutathione in brain disorders and aging. *Molecules, 2022, Vol. 27, no. 1, 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, 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.* 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.*

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.*

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.*

10. Tyrtyshnaia 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. *Int. J. Mol. Sci., 2021, Vol. 22, no. 19, 10728.* doi: 10.3390/ijms221910728.

11. Wang Y., Leak R.K., Cao G. Microglia-mediated neuroinflammation and neuroplasticity after stroke. *Front. Cell. Neurosci., 2022, Vol. 16, 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. *Sci. Bull. (Beijing), 2023, Vol. 68, no. 19, pp. 2268-2284.*

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. *Neurobiol. Dis., 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. *J. Neuroinflammation, 2013, Vol. 10, 23.* doi: 10.1186/1742-2094-10-23.

Авторы:

Бобров М.Ю. *— к.х.н., ведущий научный сотрудник направления «Иммунобиология и биомедицина» Научного центра генетики и наук о жизни АНОО ВО «Научно-технологический университет “Сириус”», пгт Сириус, Краснодарский край, Россия*

Никитин В.С. *— лаборант-исследователь, студент магистратуры (направление «Иммунобиология и биомедицина») АНОО ВО «Научно-технологический университет “Сириус”», пгт Сириус, Краснодарский край, Россия*

Бурак М.Ю. *— лаборант-исследователь, студент магистратуры (направление «Иммунобиология и биомедицина») АНОО ВО «Научно-технологический университет “Сириус”», пгт Сириус, Краснодарский край, Россия*

Афонин М.Б. *— главный инженер-исследователь ресурсного центра аналитических методов АНОО ВО «Научно-технологический университет “Сириус”», пгт Сириус, Краснодарский край, Россия*

Authors:

Bobrov M.Yu., *PhD (Chemistry), Leading Researcher in the Field of “Immunobiology and biomedicine”, Scientific Center of Genetics and Life Sciences, Sirius University of Science and Technologies, Sirius settlement, Krasnodar Region, Russian Federation*

Nikitin V.S., *Laboratory Research Assistant, Master’s Student (Immunobiology and Biomedicine), Sirius University of Science and Technologies, Sirius settlement, Krasnodar Region, Russian Federation*

Burak M.Yu., *Laboratory Research Assistant, Master’s Student (Immunobiology and Biomedicine), Sirius University of Science and Technologies, Sirius settlement, Krasnodar Region, Russian Federation*

Afonin M.B., *Chief Research Engineer, Resource Center for Analytical Methods, Sirius University of Science and Technologies, Sirius settlement, Krasnodar Region, Russian Federation*

Поступила 31.03.2025
Отправлена на доработку 11.05.2025
Принята к печати 25.05.2025

Received 31.03.2025
Revision received 11.05.2025
Accepted 25.05.2025