

УДК 615.272+616.153.455-008.612+571.27
DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ636130>



СПОСОБНОСТЬ ЛАКТОФЕРРИНА ПРЕПЯТСТВОВАТЬ РАЗВИТИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО/ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА И УЛУЧШАТЬ ЗАЖИВЛЕНИЕ РАН У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИЕЙ

А.В. Соколов^{1,2}, В.А. Иванов², В.А. Костевич^{1,2}, Н.П. Горбунов¹, И.В. Войнова¹, В.Б. Васильев¹, С.А. Гусев², О.М. Панасенко²

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

² Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. акад. Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

Для цитирования: Соколов А.В., Иванов В.А., Костевич В.А., Горбунов Н.П., Войнова И.В., Васильев В.Б., Гусев С.А., Панасенко О.М. Способность лактоферрина препятствовать развитию окислительного/галогенирующего стресса и улучшать заживление ран у крыс с экспериментальной гипергликемией // Медицинский академический журнал. 2024. Т. 24. № 4. С. 74–83. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ636130>

Рукопись получена: 18.09.2024

Рукопись одобрена: 24.09.2024

Опубликована online: 27.12.2024

Обоснование. Миелопероксидаза лейкоцитов катализирует образование НОСІ, которая, окисляя и хлорируя биомолекулы, способствует развитию окислительного/галогенирующего стресса. Предполагается, что последний в условиях гипергликемии препятствует заживлению ран при осложнениях у больных сахарным диабетом.

Цель — оценка концентрации маркеров окислительного/галогенирующего стресса и нетоза в крови экспериментальных крыс с гипергликемией, ее коррекция при помощи лактоферрина, а также выяснение влияния этого многофункционального белка на заживление кожных ран.

Материалы и методы. Моделирование гипергликемии *in vivo* проводили путем однократного введения стрептозотоцина в дозировке 43 мг на 1 кг массы животного. Отбор проб крови проводили у наркотизированных животных из хвостовой вены. Маркеры окислительного и галогенирующего стресса регистрировали иммуноферментным и спектрофотометрическим методами.

Результаты. Показано, что введение крысам с экспериментальной моделью гипергликемии стрептозотоцином лактоферрина в варианте «профилактика + терапия» (доза 250 мг/кг за 5, 3, 1 сут до и через 2, 4, 6 и 8 сут после введения стрептозотоцина) достоверно снизило в крови животных концентрацию глюкозы (натощак), миелопероксидазы, хлорированного церулоплазмينا, комплексов миелопероксидазы с ДНК, а также препятствовало снижению концентрации тиолов (групп SH), активности эритроцитарной глутатионпероксидазы. Более того, введение лактоферрина по указанной выше схеме способствовало заживлению ран у экспериментальных животных, сопровождающемуся уменьшением площади раны на 28 % по сравнению с животными контрольной группы.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что лактоферрин обладает способностью в условиях моделирования гипергликемии *in vivo* снижать не только характеризующие ее уровень показатели, но и препятствовать развитию окислительного/галогенирующего стресса и нетоза, что приводит к ускорению заживления ран у экспериментальных животных.

Ключевые слова: окислительный стресс; галогенирующий стресс; миелопероксидаза; нейтрофилы; лактоферрин; гликирование; заживление ран; воспаление.

ABILITY OF LACTOFERRIN TO INHIBIT OXIDATIVE/HALOGENATIVE STRESS AND IMPROVE WOUND HEALING IN RATS WITH EXPERIMENTAL HYPERGLYCEMIA

Alexey V. Sokolov^{1,2}, Viktor A. Ivanov², Valeria A. Kostevich^{1,2}, Nikolay P. Gorbunov¹, Irina V. Voynova¹, Vadim B. Vasilyev¹, Sergey A. Gusev², Oleg M. Panasenko²

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

² Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

For citation: Sokolov AV, Ivanov VA, Kostevich VA, Gorbunov NP, Voynova IV, Vasilyev VB, Gusev SA, Panasenko OM. Ability of lactoferrin to inhibit oxidative/halogenative stress and improve wound healing in rats with experimental hyperglycemia. *Medical Academic Journal*. 2024;24(4):74–83. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ636130>

Received: 18.09.2024

Accepted: 24.09.2024

Published online: 27.12.2024

Список сокращений

ДНК–МПО — комплекс ДНК с миелопероксидазой; ЛФ — лактоферрин; МПО — миелопероксидаза; СД — сахарный диабет; ЦП — церулоплазмин; ЦП-Cl — церулоплазмин, модифицированный действием НОСІ; GSH — глутатион восстановленный; GSH-Пр — глутатионпероксидаза.

BACKGROUND: Leukocyte myeloperoxidase catalyzes the formation of HOCl, which, by oxidizing and chlorinating biomolecules, contributes to the development of oxidative/halogenative stress. The latter in hyperglycemia may interfere with wound healing in patients with diabetes mellitus complications.

AIM: Evaluation of the concentration of markers of oxidative/halogenative stress and NETosis in the blood of experimental rats with hyperglycemia, its correction with lactoferrin, as well as elucidation of the effect of this multifunctional protein on skin wound healing.

MATERIALS AND METHODS: For the experimental modeling of hyperglycemia, the animals were injected once with streptozotocin at a dosage of 43 mg/kg body weight. Blood samples were collected from the tail vein of anesthetized animals. Glucose was measured by the electrochemical method. Markers of oxidative/halogenative stress were detected by the immunoenzymatic and spectrophotometric methods.

RESULTS: It was shown that in rats with streptozotocin-induced hyperglycemia, a “prophylactic+therapeutic” supplementation of lactoferrin (at a dose of 250 mg/kg on days 5, 3, and 1 before and days 2, 4, 6, and 8 after streptozotocin injection) significantly decreased blood concentration of glucose (fasting), myeloperoxidase, chlorinated ceruloplasmin, complexes of myeloperoxidase/DNA, and also prevented the decrease in thiols (SH-groups) and the activity of erythrocyte glutathione peroxidase. Moreover, lactoferrin administered according to the above regimen to rats with experimental hyperglycemia promoted wound healing, which was manifested by a 28% decrease in the wound area compared to the control animals.

CONCLUSIONS: The results obtained indicate that lactoferrin has an ability in a hyperglycemia model in animals to reduce not only the hyperglycemia level, but also to prevent the development of oxidative/halogenative stress and NETosis, which leads to improved wound healing.

Keywords: oxidative stress; halogenative stress; myeloperoxidase; neutrophils; lactoferrin; glycation; wound healing; inflammation.

Обоснование

В организме человека содержатся ферменты группы пероксидаз млекопитающих [1]. Общее для этих ферментов то, что они помимо пероксидазной активности обладают уникальной способностью катализировать окисление галогенидов (Cl^- , Br^- и I^-) с образованием соответствующих гипогалоидных кислот (HOCl , HOBr и HOI). Последние принято называть активными формами галогенов [2], они являются сильными окислителями и галогенирующими агентами, реагирующими со многими биологически важными молекулами: нуклеиновыми кислотами, белками, липидами и др. [1, 2]. С одной стороны, благодаря этой способности ферменты осуществляют бактерицидную функцию, с другой стороны, они вовлечены в повреждение клеток и тканей организма-хозяина, что приводит к развитию галогенирующего стресса — дисбаланса между образованием активных форм галогенов и способностью организма удалять или нейтрализовать их избыточное количество [2, 3]. Среди пероксидаз млекопитающих особого внимания заслуживает миелопероксидаза (МПО), поскольку, во-первых, ее количество в крови превосходит количество других пероксидаз, во-вторых, это единственный фермент, который в физиологических условиях может катализировать образование HOCl в концентрациях, достаточных для защиты организма от инфекций [4]. МПО высвобождается во внеклеточное пространство главным образом при дегрануляции нейтрофилов [5] и при нетозе [6].

Известно, что окислительный/галогенирующий стресс играет важную роль в патогенезе большого количества заболеваний, сопряженных с инфекцией и воспалением [1–3, 5, 7]. Одно

из таких заболеваний — сахарный диабет (СД), возникающий из-за недостатка гормона инсулина или инсулинорезистентности, в результате чего развивается гипергликемия — стойкое увеличение содержания глюкозы в крови. Прогрессирующее течение СД часто ассоциировано с развитием осложнений, связанных с гнойно-некротическими поражениями нижних конечностей, которые сопровождаются длительно незаживающими ранами даже при хорошо контролируемой гликемии и адекватном хирургическом лечении [8].

В литературе есть указания на то, что МПО, провоцируя эндотелиальную дисфункцию, может служить одним из важных связующих звеньев между воспалением, окислительным/галогенирующим стрессом и сердечно-сосудистыми осложнениями при СД [9, 10]. При моделировании СД у крыс было показано, что связанная с сосудистой стенкой МПО, используя H_2O_2 гипергликемического происхождения, усиливает эндотелиальную дисфункцию образующимися при этом окислителями, в том числе HOCl [11]. Об участии галогенирующего стресса в развитии осложнений СД говорит тот факт, что нейтрофилы и моноциты периферической крови пациентов с СД 2-го типа генерируют больше HOCl по сравнению с клетками здоровых доноров [12, 13]. У пациентов наблюдали увеличение в крови ферментативной активности МПО [14]. Показано, что гипергликемия увеличивает активацию нейтрофилов, в частности, вызывая нетоз [15, 16], и это препятствует заживлению ран при осложнениях у больных СД [17]. Таким образом, очевидно, что МПО — важный участник процессов, происходящих в местах

инфицирования и повреждения тканей при гипергликемии и СД. В этой связи актуален поиск средств, способных при необходимости препятствовать активации нейтрофилов, функционированию МПО и развитию галогенирующего стресса.

Белок специфических гранул нейтрофилов лактоферрин (ЛФ) подавляет нетоз при воспалении [18], препятствуя, таким образом, галогенирующему стрессу, вместе с тем он проявляет выраженные антибактериальные, противовоспалительные и противодиабетические свойства [19]. Показано, что низкий уровень циркулирующего в крови ЛФ поддерживает хроническое воспаление, снижает толерантность к глюкозе у больных СД 2-го типа [20] и активацию окислительного стресса при метаболическом синдроме [21].

Цель — исследование концентрации маркеров окислительного/галогенирующего стресса и нетоза в крови экспериментальных животных (крыс) с гипергликемией, их коррекция при помощи ЛФ, а также влияние этого многофункционального белка на заживление ран.

Материалы и методы

Используемые реагенты. Стрептозотоцина моногидрат, 3-(2-пиридил)-5,6-бис(4-фенилсульфоновая кислота)-1,2,4-триазин (феррозин), 3,3',5,5'-тетраметилбензидин дигидрохлорида гидрат, глюкоза (Sigma-Aldrich, США); 5,5'-дитио-бис-2-нитробензойная кислота, глутатион восстановленный (GSH), *трет*-бутилгидропероксид (Sorachim, Франция); конъюгат пероксидазы хрена с антителами ослы к IgG кролика, бычий сывороточный альбумин, окрашенные маркеры молекулярной массы (Bio-Rad, США); феррицианид калия, трихлоруксусная кислота (Нева-Реактив, Россия). МПО выделяли из перитонеальной жидкости, полученной от крыс, которым за сутки до выведения из опыта вводили внутривенно суспензию крахмала [22]. Церулоплазмин (ЦП) выделяли из сыворотки крови, полученной от крыс [23]. Рекомбинантный ЛФ был любезно предоставлен заведующим кафедрой биохимии Белорусского государственного университета И.В. Семаком. Антитела против исследуемых белков (МПО, ЦП, ЦП-Cl) были получены с помощью иммунизации мышей и кроликов.

Модель гипергликемии со стрептозотоцином у крыс. Эксперименты выполнены на 80 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 5 нед. массой 120–150 г. Для моделирования гипергликемии использовали инъекцию раствора стрептозотоцина моногидрата из расчета 43 мг/кг массы. Для выяснения влияния ЛФ на гипергликемию и параметры окислительного/галогенирующего

стресса было использовано три варианта введения ЛФ:

- 1) «терапия» (группа 1): доза 50 мг/кг ежедневно с 1-х по 5-е сутки от введения стрептозотоцина (8 крыс и 8 в контрольной группе);
- 2) «профилактика» (группа 2): доза 250 мг/кг ежедневно за 5 сут до введения стрептозотоцина (8 крыс и 8 в контрольной группе);
- 3) «профилактика + терапия» (группа 3): доза 250 мг/кг за 5, 3, 1 сут до и через 2, 4, 6 и 8 сут после введения стрептозотоцина (7 крыс и 7 в контрольной группе).

С целью получения сыворотки и плазмы кровь собирали по 1 мл в пробирки без антикоагулянта и стабилизированную трехзамещенным этилендиаминтетраацетатом калия соответственно. После свертывания крови в первой пробирке сыворотку и плазму отделяли центрифугированием проб в течение 5 мин при 450g. Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови крыс для контроля развития гипергликемии проводили глюкозооксидазным методом без депротеинизации с использованием набора «Глюкоза-ВИТАЛ» (Витал Девелопмент Корпорэйшн, Россия).

Модель заживления ран. В день введения стрептозотоцина животным под эфирным наркозом наносили сквозную рану на левое и на правое ухо с помощью устройства для панч-биопсии с диаметром отверстия 4 мм. Рану обрабатывали дентином для остановки кровотечения. После этого каждую из 7 крыс контрольной и 7 крыс опытной группы рассаживали в индивидуальные клетки для минимизации дальнейшего повреждения ушей. На 35-й день вывода животных из эксперимента уши наркотизированных животных фотографировали, прикладывая отверстия к бумаге, разлинованной с шагом 1 мм (миллиметровка), чтобы оценить диаметр отверстия и рассчитать площадь раны.

Фотометрические методы. Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови крыс проводили глюкозооксидазным методом без депротеинизации с использованием набора «Глюкоза-ВИТАЛ» (Витал Девелопмент Корпорэйшн, Россия), регистрируя оптическую плотность добавленного хромогенного субстрата при 510 нм. Удельную ферроксидазную активность ЦП в сыворотке крови крыс оценивали по остаточному количеству добавленного в сыворотку Fe^{2+} , измеряемому фотометрически за счет образования окрашенного комплекса Fe^{2+} с феррозином [24]. Результат выражали в единицах ферроксидазной активности на мкмоль/л ЦП. Определение концентрации гемоглобина в крови проводили унифицированным колориметрическим методом, при котором гемоглобин под действием феррицианида и цианида калия

превращается в цианметгемоглобин, регистрируемый при 540 нм [25]. Концентрацию свободных SH-групп проводили с помощью реактива Элмана [26]. Активность глутатионпероксидазы (GSH-Пр) эритроцитов измеряли в лизате эритроцитов по убыли GSH [27] и нормировали на концентрацию гемоглобина.

Иммунохимические методы. Определение концентрации ЦП в сыворотке крови крыс проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа. Схема проведения анализа включала сорбцию антигена в лунках полистирольного планшета, покрытых антителами, блокировку свободных участков планшета, инкубацию со специфическими к анализируемому антигену антителами кролика, инкубацию

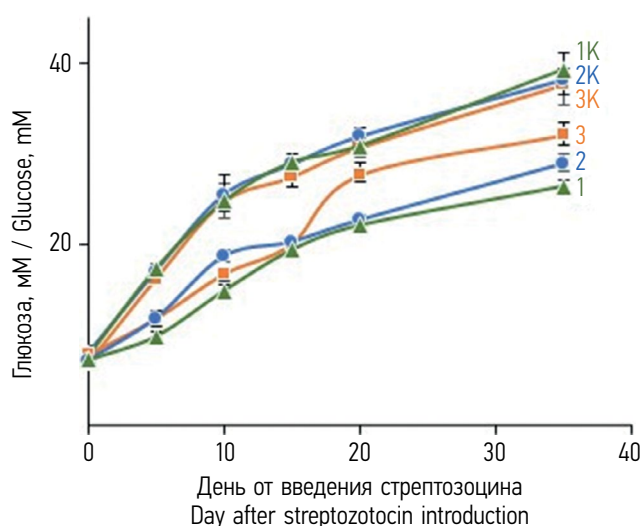


Рисунок. Изменение концентрации глюкозы натощак в венозной крови животных (крыс) с экспериментальной гипергликемией при различных схемах введения лактоферрина. Данные представлены как медиана и квартили [Q_1 ; Q_3]. 1 — Введение 250 мг/кг лактоферрина за 5, 3, 1 сут до и через 2, 4, 6 и 8 сут после введения стрептозотцина. 2 — Введение 250 мг/кг лактоферрина ежедневно, начиная за 5 сут до введения стрептозотцина. 3 — Введение 50 мг/кг лактоферрина ежедневно с 1-х по 5-е сутки от введения стрептозотцина. Кривые семейства «К» — контрольные группы животных, которым вместо лактоферрина вводили изотонический раствор натрия хлорида в объеме и режиме, аналогичном введению лактоферрина

Figure. Changes in fasting glucose concentration in venous blood of animals (rats) with experimental hyperglycemia under different lactoferrin regimens. Data are presented as median and quartiles [Q_1 ; Q_3]. 1, Lactoferrin (250 mg/kg) administration on days 5, 3, 1 days before and 2, 4, 6, 8 days after streptozotocin introduction. 2, Lactoferrin (250 mg/kg) administration daily, starting 5 days before streptozotocin introduction. 3, Lactoferrin (50 mg/kg) administration daily on days 1 to 5 after streptozotocin introduction. Curves of the “K” family — control groups of animals, in which isotonic saline instead of lactoferrin was used in the same volume and regimen as for lactoferrin

с антивидовыми антителами осла, конъюгированными с пероксидазной меткой, окрашивание раствором 3,3',5,5'-тетраметилбензидина, остановку реакции добавлением серной кислоты.

МПО в плазме крови крысы определяли методом конкурентного иммуноферментного анализа с сорбцией на твердую фазу анти-МПО антител 3Н9. В качестве конкурента вносили биотинилированную МПО крысы, которую выявляли с помощью стрептавидин-пероксидазы.

ЦП, модифицированный действием НОС1 (ЦП-С1), определяли методом сэндвич-иммуноферментного анализа. На твердой фазе сорбировали антитела 1Н2. Вторичные антитела 1В12, конъюгированные с пероксидазой, добавляли после инкубирования образца либо стандартов ЦП-С1, а затем выявляли пероксидазную метку с помощью тетраметилбензидина и пероксида водорода.

В качестве критерия образования внеклеточных ловушек нейтрофилов нами была использована концентрация комплексов ДНК–МПО, выявляемых в плазме крови с помощью комбинации твердофазного анализа с иммобилизованными на твердой фазе антителами против МПО крысы с последующим выявлением ДНК в комплексе с МПО с помощью красителя PicoGreen 488.

Статистическую обработку полученных результатов производили при помощи программ MS Excel. Для выявления различий между экспериментальными группами и контролем использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента и непараметрический *U*-критерий Манна – Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

На рисунке представлена динамика изменения концентрации глюкозы у крыс, получавших ЛФ в трех вариантах: «терапия» (группа 1), «профилактика» (группа 2) и «профилактика + терапия» (группа 3), а также соответствующих контрольных групп. Видно, что во всех трех контрольных группах животных (без введения ЛФ) концентрация глюкозы в крови на 35-е сутки повысилась в ~5 раз. Введение животным ЛФ по всем трем схемам привело к достоверному снижению концентрации глюкозы в крови. Однако наиболее выраженный эффект наблюдался в группе 3 «профилактика + терапия» (см. рисунок). В дальнейшем мы для регистрации показателей окислительного/галогенирующего стресса и некроза использовали именно этот вариант введения ЛФ животным.

Галогенирующий стресс характеризовали, измеряя в плазме крови животных концентрацию МПО, в сыворотке крови — ЦП-С1, не-

тоз — измеряя в плазме крови концентрацию комплекса ДНК–МПО, антиокислительный потенциал — по концентрации в сыворотке крови SH-групп и удельной ферроксидазной активности, а также по активности GSH-Пр в лизате эритроцитов. Следует отметить, что у крыс, которые не получали ни стрептозотоцин, ни ЛФ, измеряемые параметры за время проведения эксперимента достоверно не изменялись (данные не приведены). Результаты эксперимента представлены в таблице. Видно, что концентрация МПО повысилась на 35-й день после введения крысам стрептозотоцина (контрольная группа) до 349 нг/мл, превысив исходное значение в ~4,4 раза, и была достоверно ниже у крыс, получавших ЛФ (157 нг/мл). Одновременно с повышением концентрации МПО в контрольной группе животных было зарегистрировано 5-кратное увеличение концентрации ЦП-СІ. Введение крысам ЛФ приводило к достоверному снижению на 35-й день ЦП-СІ в сыворотке крови животных в ~2,5 раза по сравнению с контрольной группой (см. таблицу).

Предполагая, что модификация ЦП действием НОСІ, а также в результате гликирования

может приводить к потере его ферроксидазной активности, нами была протестирована удельная ферроксидазная активность в образцах сыворотки крови, полученных от крыс. Действительно, этот показатель снижался у животных контрольной группы на 35-й день моделирования гипергликемии в ~1,5 раза. У крыс, получавших ЛФ, снижение ферроксидазной активности сыворотки за этот период практически отсутствовало (см. таблицу).

Учитывая, что соединения, содержащие группы SH (тиолы), обладают антиокислительной активностью [28] и являются весьма эффективными перехватчиками НОСІ [29], была измерена концентрация тиолов в образцах сыворотки крови. На 35-й день развития гипергликемии у крыс контрольной группы было зафиксировано достоверное снижение концентрации тиолов, а у животных, получавших ЛФ, этот эффект был менее выражен (см. таблицу). На 35-й день гипергликемии в лизате эритроцитов крыс контрольной группы было выявлено достоверное снижение активности антиокислительного фермента GSH-Пр, тогда как введение животным ЛФ не только нивелировало этот эффект,

Таблица / Table

Концентрация глюкозы, параметры, характеризующие окислительный/галогенирующий стресс и нетоз, а также размер ран у крыс с экспериментальной гипергликемией (модель со стрептозотоцином, группа 3) на 0 и 35 день после введения стрептозотоцина без введения (контроль) и с введением лактоферрина.

Данные представлены как медиана и квартили [Q₁; Q₃]

Glucose concentrations, parameters characterizing oxidative/halogenative stress and NETosis, and wound size in rats with experimental hyperglycemia (streptozotocin-induced model) on days 0 and 35 after streptozotocin administration to rats receiving (group 3) or not receiving (control) lactoferrin.

Data are expressed as median and quartiles [Q₁; Q₃]

Показатель	Контрольная группа крыс (n = 7)		Группа крыс 3 с введением лактоферрина (n = 7)	
День эксперимента	0	35	0	35
Глюкоза, ммоль/л	7,6 [7,1; 7,9]	27,3* [25,9; 29,2]	7,1 [6,7; 7,2]	16,3# [15,5; 17,1]
Миелопероксидаза, нг/мл	79,0 [64,5; 86,5]	349,0* [247,5; 395,5]	77,0 [65,0; 87,5]	157,0# [139,5; 177,5]
Церулоплазмин, модифицированный действием НОСІ, нг/мл	24,0 [21,0; 27,0]	119,0* [90,5; 124,0]	24,0 [20,5; 27,5]	48,0# [42,5; 58,5]
Комплекс ДНК–миелопероксидаза, нг/мл	60,0 [49,5; 67,0]	277,0* [191,5; 317,5]	57,0 [47,5; 61,0]	116,0# [103,0; 132,0]
Ферроксидазная активность, мкмоль церулоплазмина/л	122,0 [117,0; 125,0]	84,0* [80,5; 88,0]	114,0 [108,0; 122,0]	105,0# [102,0; 109,0]
Тиолы, мкмоль/л	530,0 [513,0; 553,0]	337,0* [292,0; 412,0]	539,0 [518,0; 544,0]	470,0# [459,0; 504,0]
Глутатионпероксидаза, ммоль/л × мин × г гемоглобина	6,9 [6,8; 7,2]	5,3* [4,6; 6,1]	7,1 [6,9; 7,5]	7,4# [7,3; 7,4]
Площадь раны, мм ²	16,0 [16,0; 16,0]	16,6* [16,1; 17,3]	16,0 [16,0; 16,0]	11,9# [11,3; 12,6]

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями 0-го дня; # $p < 0,05$ по сравнению с показателями 35-го дня контрольной группы по критерию Манна – Уитни.

но и приводило к некоторому повышению активности фермента (см. таблицу). В совокупности полученные результаты свидетельствуют о прогрессировании окислительного/галогенирующего стресса при развитии экспериментальной гипергликемии у крыс. Введение животным ЛФ эффективно препятствует этому.

На 35-й день моделирования у крыс гипергликемии концентрация в плазме крови комплекса ДНК–МПО, который используют в качестве маркера нетоза [30], увеличилась в ~4,6 раза. Если животным вводили ЛФ, то это увеличение было гораздо меньше (в ~2 раза, см. таблицу).

В целом, схема введения ЛФ, захватывающая профилактический и терапевтический периоды (группа 3), представляется весьма эффективной в плане коррекции этим белком окислительно-галогенирующего стресса и нетоза. Именно поэтому она была использована нами для анализа ранозаживляющего эффекта ЛФ на модели кожной раны у экспериментальных крыс. В день введения стрептозотоцина животным наносили сквозную рану на левое и правое ухо с диаметром отверстия 4 мм. На 35-й день животных выводили из эксперимента, оценивали диаметр отверстия и рассчитывали площадь раны. Результаты приведены в табл. 1. Оказалось, что у крыс контрольной группы размер раны был достоверно выше, а ее края имели розово-красную окраску. Раны крыс, получавших ЛФ, напротив не были окрашены по краю и были достоверно меньше по размеру (на ~28 %), свидетельствуя о ранозаживляющей способности ЛФ.

Обсуждение

Ранее было установлено, что ЛФ снижает концентрацию глюкозы в крови экспериментальных животных, находящихся на диете с высоким содержанием жиров [31] и холестерина [32]. Мы впервые показали, что ЛФ способен проявлять такой же эффект, препятствуя экспериментальной гипергликемии у крыс. Гипергликемия характеризуется накоплением в крови конечных продуктов гликирования, которые, связываясь с клеточными рецепторами, в том числе и лейкоцитами, активируют клетки, усиливая продукцию ими активных форм кислорода, что способствует развитию окислительного стресса [33]. ЛФ блокирует связывание белков и липопротеинов, модифицированных в условиях гипергликемии, с клетками, снижая их активацию, тем самым препятствуя окислительному стрессу [34]. Прием ЛФ больными СД 2-го типа по 250 мг/день в течение 3 мес. привел к нормализации гликированного гемоглобина (гипогликемический эффект). Кроме того, было зафиксировано увеличение активности

супероксиддисмутазы в образцах сыворотки крови и количества транскрипционного фактора антиокислительной защиты (Nrf2) в ядерных экстрактах моноцитов [35], что хорошо согласуется с нашими данными, свидетельствующими об увеличении в результате приема ЛФ антиокислительного потенциала крови экспериментальных крыс в условиях гипергликемии (увеличение содержания в сыворотке крови тиолов и активности GSH-Пр в эритроцитах). Этому должно способствовать и обнаруженное нами ЛФ-зависимое сохранение удельной ферроксидазной активности сыворотки крови в условиях гипергликемии.

Обнаруженное нами увеличение в крови животных комплекса ДНК–МПО свидетельствует об иницировании нетоза в условиях гипергликемии, что хорошо согласуется с опубликованными ранее результатами [15, 16]. Введение ЛФ экспериментальным животным, согласно нашим данным, а также полученным ранее [18], сдерживает нетоз. Принимая во внимание этот результат, а также способность ЛФ препятствовать при гипергликемии активации лейкоцитов и других клеток [34], логично предположить, что это может повлечь за собой снижение высвобождения МПО из лейкоцитов. Именно этот результат был получен нами в ходе выполнения данной работы. В свою очередь, уменьшение концентрации МПО в крови должно сопровождаться снижением продукции НОС1 и, соответственно, уменьшением образования хлорированных белков, что и было обнаружено нами на примере ЦП-С1.

Механизм защитного действия ЛФ при заживлении ран, по мнению авторов работы [36], включает регуляцию воспалительных процессов, активности фибробластов и кератиноцитов, а также ангиогенеза. При местном нанесении рекомбинантного ЛФ в форме геля уменьшение размера язвы на $\geq 75\%$ было в два раза чаще по сравнению с группой плацебо [37]. Наши результаты демонстрируют, что важная составляющая механизма ЛФ-зависимого заживления ран — это его способность препятствовать окислительному/галогенирующему стрессу и нетозу.

Заключение

Таким образом, полученные нами результаты дают основание заключить, что экспериментальная гипергликемия у животных сопровождается:

- 1) ростом маркеров галогенирующего стресса — концентрации МПО и ЦП-С1 в крови;
- 2) снижением антиокислительного потенциала — концентрации тиолов и удельной ферроксидазной активности в крови, а также активности GSH-Пр в эритроцитах;

3) усилением нетоза, а именно увеличением концентрации комплексов ДНК–МПО в крови.

ЛФ препятствует этому, снижая уровень глюкозы в крови, подавляя окислительный/галогенирующий стресс и нетоз, что способствует заживлению ран у экспериментальных животных. Учитывая полученные нами результаты, а также то, что ЛФ проявляет выраженные антибактериальные, противовоспалительные и противодиабетические свойства [19], его можно рекомендовать в качестве важнейшего компонента при создании средств, направленных на коррекцию гипергликемии, СД и его осложнений в виде гнойно-некротических поражений.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 20-15-00390-П.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этический комитет. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА России (Протокол № 2022/10/05 от 05.10.2022).

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Наибольший вклад распределен следующим образом: *А.В. Соколов, О.М. Панасенко, В.Б. Васильев* — концепция и дизайн исследования, редактирование статьи; *А.В. Соколов, В.А. Иванов, В.А. Костевич, Н.П. Горбунов, И.В. Войнова* — постановка экспериментов; *О.М. Панасенко, В.А. Иванов, С.А. Гусев, А.В. Соколов* — написание текста, составление графиков, таблиц.

Additional information

Funding source. The reported study was funded by RSF according to the research project No. 20-15-00390-П.

Competing interest. The author declare that they have no conflict of interest.

Ethics approval. This research was approved by the Bioethical Committee of the Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency (protocol No. 2022/10/05 dated 05.10.2022)

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval

of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Personal contribution of each author: *A.V. Sokolov, O.M. Panasenko, and V.B. Vasilyev*, concept and design research, article editing; *A.V. Sokolov, V.A. Ivanov, V.A. Kostevich, N.P. Gorbunov, and I.V. Voynova*, staging experiments; *O.M. Panasenko, V.A. Ivanov, S.A. Gusev, and A.V. Sokolov*, writing the article, drawing up graphs, tables.

Список литературы

1. Davies M.J., Hawkins C.L., Pattison D.I., Rees M.D. Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications // *Antioxid Redox Signal*. 2008. Vol. 10, N 7. P. 1199–1234. doi: 10.1089/ars.2007.1927
2. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах // *Успехи биологической химии*. 2013. Т. 53. С. 195–244. EDN: VAQSIL
3. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Галогенирующий стресс и его биомаркеры // *Вестник РАМН*. 2010. № 1. С. 27–39. EDN: MBCLFX
4. Arnhold J., Monzani E., Furtmiller P.G., et al. Kinetics and thermodynamics of halide and nitrite oxidation by mammalian heme peroxidases // *Eur J Inorg Chem*. 2006. Vol. 2006. N 19. P. 3801–3811. doi: 10.1002/ejic.200600436
5. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe // *J Leukoc Biol*. 2005. Vol. 77, N 5. P. 598–625. doi: 10.1189/jlb.1204697
6. Thiam H.R., Wong S.L., Wagner D.D., Waterman C.M. Cellular mechanisms of NETosis // *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2020. Vol. 36, N 1. P. 191–218. doi: 10.1146/annurev-cellbio-020520-111016
7. Панасенко О.М., Торховская Т.И., Горудко И.В., Соколов А.В. Роль галогенирующего стресса в атерогенной модификации липопротеинов низкой плотности // *Успехи биологической химии*. 2020. Т. 60. С. 75–122. EDN: YJFDYT doi: 10.1134/S0006297920140035
8. Jones R.N., Marshall W.P. Does the proximity of an amputation, length of time between foot ulcer development and amputation, or glycemic control at the time of amputation affect the mortality rate of people with diabetes who undergo an amputation? // *Adv Skin Wound Care*. 2008. Vol. 21, N 3. P. 118–123. doi: 10.1097/01.ASW.0000305419.73597.5f
9. Stenvinkel P., Rodriguez-Ayala E., Massy Z.A., et al. Statin treatment and diabetes affect myeloperoxidase activity in maintenance hemodialysis patients // *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006. Vol. 1, N 2. P. 281–287. doi: 10.2215/CJN.01281005
10. Vita J.A., Brennan M.-L., Gokce N., et al. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans // *Circulation*. 2004. Vol. 110, N 9. P. 1134–1139. doi: 10.1161/01.CIR.0000140262.20831.8F
11. Zhang C., Yang J., Jennings L.K. Leukocyte-Derived Myeloperoxidase amplifies high-glucose-induced endothelial dysfunction through interaction with high-glucose stimulated, vascular non leukocyte-derived reactive oxygen species // *Diabetes*. 2004. Vol. 53, N 11. P. 2950–2959. doi: 10.2337/diabetes.53.11.2950
12. Ghoshal K., Das S., Aich K., et al. A novel sensor to estimate the prevalence of hypochlorous (HOCl) toxicity in individuals with type 2 diabetes and dyslipidemia // *Clin Chim Acta*. 2016. Vol. 458. P. 144–153. doi: 10.1016/j.cca.2016.05.006

13. Tian R., Ding Y., Peng Y.Y., Lu N. Myeloperoxidase amplified high glucose-induced endothelial dysfunction in vasculature: Role of NADPH oxidase and hypochlorous acid // *Biochem Biophys Res Commun.* 2017. Vol. 484, N 3. P. 572–578. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.132
14. Wiersma J.J., Meuwese M.C., van Miert J.N., et al. Diabetes mellitus type 2 is associated with higher levels of myeloperoxidase // *Med Sci Monit.* 2008. Vol. 14, N 8. P. CR406–410.
15. Miyoshi A., Yamada M., Shida H., et al. Circulating neutrophil extracellular trap levels in well-controlled type 2 diabetes and pathway involved in their formation induced by high-dose glucose // *Pathobiology.* 2016. Vol. 83, N 5. P. 243–251. doi: 10.1159/000444881
16. Menegazzo L., Ciciliot S., Poncina N., et al. NETosis is induced by high glucose and associated with type 2 diabetes // *Acta Diabetol.* 2015. Vol. 52, N 3. P. 497–503. doi: 10.1007/s00592-014-0676-x
17. Wong S.L., Demers M., Martinod K., et al. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing // *Nat Med.* 2015. Vol. 21, N 7. P. 815–819. doi: 10.1038/nm.3887
18. Okubo K., Kamiya M., Urano Y., et al. Lactoferrin suppresses neutrophil extracellular traps release in inflammation // *EBioMedicine.* 2016. Vol. 10. P. 204–215. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.07.012
19. Елизарова А.Ю., Костевич В.А., Войнова И.В., Соколов А.В. Лактоферрин как перспективное средство в терапии метаболического синдрома: от молекулярных механизмов до клинических испытаний // *Медицинский академический журнал.* 2019. Т. 19, № 1. С. 45–64. EDN: NSIQHM doi: 10.17816/MAJ19145-64
20. Moreno-Navarrete J.M., Ortega F.J., Bassols J., et al. Decreased circulating lactoferrin in insulin resistance and altered glucose tolerance as a possible marker of neutrophil dysfunction in type 2 diabetes // *J Clin Endocrinol Metab.* 2009. Vol. 94, N 10. P. 4036–4044. doi: 10.1210/jc.2009-0215
21. Fernández-Real J.M., García-Fuentes E., Moreno-Navarrete J.M., et al. Fat overload induces changes in circulating lactoferrin that are associated with postprandial lipemia and oxidative stress in severely obese subjects // *Obesity.* 2010. Vol. 18, N 3. P. 482–488. doi: 10.1038/oby.2009.266
22. Морозов В.И., Цыпленков П.В., Кокряков В.Н., и др. Выделение и характеристика миелопероксидазы лейкоцитов перитонеального экссудата крысы // *Биохимия.* 1997. Т. 62, № 6. С. 729–737. EDN: AGMKQF
23. Соколов А.В., Костевич В.А., Романико Д.Н., и др. Двухстадийный метод получения церулоплазмينا на основе его взаимодействия с неомицином // *Биохимия.* 2012. Т. 77, № 6. С. 775–784. EDN: PBUTLN doi: 10.1134/S0006297912060107
24. Brown M.A., Stenberg L.M., Mauk A.G. Identification of catalytically important amino acids in human ceruloplasmin by site-directed mutagenesis // *FEBS Lett.* 2002. Vol. 520, N 1–3. P. 8–12. doi: 10.1016/S0014-5793(02)02652-2
25. Kampen E., Zijlstra W. Determination of hemoglobin and its derivatives // *Adv Clin Chem.* 1966. Vol. 8. P. 141–187. doi: 10.1016/S0065-2423(08)60414-x
26. Hu M.L. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma // *Methods Enzymol.* 1994. Vol. 233. P. 380–385. doi: 10.1016/S0076-6879(94)33044-1
27. Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Определение активности глутатион пероксидазы эритроцитов при насыщающих концентрациях субстрата // *Лабораторное дело.* 1986. № 12. С. 721–724.
28. Deneke S.M. Thiol-based antioxidants // *Curr Top Cell Regul.* 2000. Vol. 36. P. 151–180. doi: 10.1016/S0070-2137(01)80007-8
29. Peskin A.V., Winterbourn C.C. Kinetics of the reactions of hypochlorous acid and amino acid chloramines with thiols, methionine, and ascorbate // *Free Radic Biol Med.* 2001. Vol. 30, N 5. P. 572–579. doi: 10.1016/S0891-5849(00)00506-2
30. An Z., Li J., Yu J., et al. Neutrophil extracellular traps induced by IL-8 aggravate atherosclerosis via activation NF- κ B signaling in macrophages // *Cell Cycle.* 2019. Vol. 18, N 21. P. 2928–2938. doi: 10.1080/15384101.2019.1662678
31. Xiong L., Ren F., Lv J., et al. Lactoferrin attenuates high-fat diet-induced hepatic steatosis and lipid metabolic dysfunctions by suppressing hepatic lipogenesis and down-regulating inflammation in C57BL/6J mice // *Food Funct.* 2018. Vol. 9, N 8. P. 4328–4339. doi: 10.1039/C8FO00317C
32. Nozari S., Fathi Maroufi N., Nouri M., et al. Decreasing serum homocysteine and hypocholesterolemic effects of bovine lactoferrin in male rat fed with high-cholesterol diet // *J Cardiovasc Thorac Res.* 2018. Vol. 10, N 4. P. 203–208. doi: 10.15171/jcvtr.2018.35
33. Yamagishi S., Maeda S., Matsui T., et al. Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in vascular complications in diabetes // *Biochim Biophys Acta.* 2012. Vol. 1820, N 5. P. 663–671. doi: 10.1016/j.bbagen.2011.03.014
34. Thornalley P.J. Cell activation by glycated proteins. AGE receptors, receptor recognition factors and functional classification of AGEs // *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 1998. Vol. 44, N 7. P. 1013–1023.
35. Mohamed W.A., Schaalan M.F. Antidiabetic efficacy of lactoferrin in type 2 diabetic pediatrics; controlling impact on PPAR- γ , SIRT-1, and TLR4 downstream signaling pathway // *Diabetol Metab Syndr.* 2018. Vol. 10, N 1. P. 89. doi: 10.1186/s13098-018-0390-x
36. Takayama Y., Aoki R. Roles of lactoferrin on skin wound healing // *Biochem Cell Biol.* 2012. Vol. 90, N 3. P. 497–503. doi: 10.1139/o11-054
37. Lyons T.E., Miller M.S., Serena T., et al. Talactoferrin alfa, a recombinant human lactoferrin promotes healing of diabetic neuropathic ulcers: a phase 1/2 clinical study // *Am J Surg.* 2007. Vol. 193, N 1. P. 49–54. doi: 10.1016/j.amjsurg.2006.07.010

References

1. Davies MJ, Hawkins CL, Pattison DI, Rees MD. Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxid Redox Signaling.* 2008;10(7):1199–1234. doi: 10.1089/ars.2007.1927
2. Panasenko OM, Gorudko IV, Sokolov AV. Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living systems. *Biochemistry (Moscow).* 2013;78(13):1466–1489. EDN: UEQLNF doi: 10.1134/S0006297913130075
3. Panasenko OM, Sergienko VI. Halogenizing stress and its biomarkers. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 2010;(1):27–39. (In Russ.) EDN: MBCLFX
4. Arnhold J, Monzani E, Furtmüller PG, et al. Kinetics and thermodynamics of halide and nitrite oxidation by mammalian heme peroxidases. *Eur J Inorg Chem.* 2006;2006(19):3801–3811. doi: 10.1002/ajic.200600436
5. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukocyte Biol.* 2005;77(5):598–625. doi: 10.1189/jlb.1204697
6. Thiam HR, Wong SL, Wagner DD, Waterman CM. Cellular mechanisms of NETosis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2020;36(1):191–218. doi: 10.1146/annurev-cellbio-020520-111016

7. Panasenکو OM, Torkhovskaya TI, Gorudko IV, Sokolov AV. The role of halogenative stress in atherogenic modification of low-density lipoproteins. *Biochemistry (Moscow)*. 2020;85(Suppl 1):34–55. EDN: EZKLSR doi: 10.1134/S0006297920140035
8. Jones RN, Marshall WP. Does the proximity of an amputation, length of time between foot ulcer development and amputation, or glycemic control at the time of amputation affect the mortality rate of people with diabetes who undergo an amputation? *Adv Skin Wound Care*. 2008;21(3):118–123. doi: 10.1097/01.ASW.0000305419.73597.5f
9. Stenvinkel P, Rodriguez-Ayala E, Massy ZA, et al. Statin treatment and diabetes affect myeloperoxidase activity in maintenance hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006;1(2):281–287. doi: 10.2215/CJN.01281005
10. Vita JA, Brennan M-L, Gokce N, et al. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans. *Circulation*. 2004;110(9):1134–1139. doi: 10.1161/01.CIR.0000140262.20831.8F
11. Zhang C, Yang J, Jennings LK. Leukocyte-derived myeloperoxidase amplifies high-glucose-induced endothelial dysfunction through interaction with high-glucose stimulated, vascular non leukocyte-derived reactive oxygen species. *Diabetes*. 2004;53(11):2950–2959. doi: 10.2337/diabetes.53.11.2950
12. Ghoshal K, Das S, Aich K, et al. A novel sensor to estimate the prevalence of hypochlorous (HOCl) toxicity in individuals with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Clin Chim Acta*. 2016;458:144–153. doi: 10.1016/j.cca.2016.05.006
13. Tian R, Ding Y, Peng YY, Lu N. Myeloperoxidase amplified high glucose-induced endothelial dysfunction in vasculature: Role of NADPH oxidase and hypochlorous acid. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;484(3):572–578. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.132
14. Wiersma JJ, Meuwese MC, van Miert JN, et al. Diabetes mellitus type 2 is associated with higher levels of myeloperoxidase. *Med Sci Monit*. 2008;14(8):CR406–410.
15. Miyoshi A, Yamada M, Shida H, et al. Circulating neutrophil extracellular trap levels in well-controlled type 2 diabetes and pathway involved in their formation induced by high-dose glucose. *Pathobiology*. 2016;83(5):243–251. doi: 10.1159/000444881
16. Menegazzo L, Ciciliot S, Poncina N, et al. NETosis is induced by high glucose and associated with type 2 diabetes. *Acta Diabetol*. 2015;52(3):497–503. doi: 10.1007/s00592-014-0676-x
17. Wong SL, Demers M, Martinod K, et al. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing. *Nat Med*. 2015;21(7):815–819. doi: 10.1038/nm.3887
18. Okubo K, Kamiya M, Urano Y, et al. Lactoferrin suppresses neutrophil extracellular traps release in inflammation. *EBioMedicine*. 2016;10:204–215. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.07.012
19. Elizarova AY, Kostevich VA, Voynova IV, Sokolov AV. Lactoferrin as a promising remedy for metabolic syndrome therapy: from molecular mechanisms to clinical trials. *Medical Academic Journal*. 2019;19(1):45–64. EDN: NSIQHM doi: 10.17816/MAJ19145-64
20. Moreno-Navarrete JM, Ortega FJ, Bassols J, et al. Decreased circulating lactoferrin in insulin resistance and altered glucose tolerance as a possible marker of neutrophil dysfunction in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(10):4036–4044. doi: 10.1210/jc.2009-0215
21. Fernández-Real JM, García-Fuentes E, Moreno-Navarrete JM, et al. Fat overload induces changes in circulating lactoferrin that are associated with postprandial lipemia and oxidative stress in severely obese subjects. *Obesity*. 2010;18(3):482–488. doi: 10.1038/oby.2009.266
22. Morozov VI, Tsyplenkov PV, Volkov KN, et al. Isolation and characterization of myeloperoxidase from leukocytes of rat peritoneal fluid. *Biochemistry (Moscow)*. 1997;62(6):623–630. EDN: LEMVUL
23. Sokolov AV, Kostevich VA, Romanico DN, et al. Two-stage method for purification of ceruloplasmin based on its interaction with neomycin. *Biochemistry (Moscow)*. 2012;77(6):631–638. EDN: RGJKMP doi: 10.1134/S0006297912060107
24. Brown MA, Stenberg LM, Mauk AG. Identification of catalytically important amino acids in human ceruloplasmin by site-directed mutagenesis. *FEBS Lett*. 2002;520(1–3):8–12. doi: 10.1016/s0014-5793(02)02652-2
25. Kampen E, Zijlstra W. Determination of hemoglobin and its derivatives. *Adv Clin Chem*. 1966;8:141–187. doi: 10.1016/s0065-2423(08)60414-x
26. Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymol*. 1994;233:380–385. doi: 10.1016/s0076-6879(94)33044-1
27. Gavrilova AR, Khmara NF. Determination of glutathione peroxidase activity in erythrocytes in saturated concentrations of the substrate. *Lab Delo*. 1986;(12):721–724. (In Russ.)
28. Deneke SM. Thiol-based antioxidants. *Curr Top Cell Regul*. 2000;36:151–180. doi: 10.1016/s0070-2137(01)80007-8
29. Peskin AV, Winterbourn CC. Kinetics of the reactions of hypochlorous acid and amino acid chloramines with thiols, methionine, and ascorbate. *Free Radic Biol Med*. 2001;30(5):572–579. doi: 10.1016/s0891-5849(00)00506-2
30. An Z, Li J, Yu J, et al. Neutrophil extracellular traps induced by IL-8 aggravate atherosclerosis via activation NF- κ B signaling in macrophages. *Cell Cycle*. 2019;18(21):2928–2938. doi: 10.1080/15384101.2019.1662678
31. Xiong L, Ren F, Lv J, et al. Lactoferrin attenuates high-fat diet-induced hepatic steatosis and lipid metabolic dysfunctions by suppressing hepatic lipogenesis and down-regulating inflammation in C57BL/6J mice. *Food Funct*. 2018;9(8):4328–4339. doi: 10.1039/c8fo00317c
32. Nozari S, Fathi Maroufi N, Nouri M, et al. Decreasing serum homocysteine and hypocholesterolemic effects of bovine lactoferrin in male rat fed with high-cholesterol diet. *J Cardiovasc Thorac Res*. 2018;10(4):203–208. doi: 10.15171/jcvtr.2018.35
33. Yamagishi S, Maeda S, Matsui T, et al. Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in vascular complications in diabetes. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1820(5):663–671. doi: 10.1016/j.bbagen.2011.03.014
34. Thornalley PJ. Cell activation by glycated proteins. AGE receptors, receptor recognition factors and functional classification of AGEs. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 1998;44(7):1013–1023.
35. Mohamed WA, Schaalan MF. Antidiabetic efficacy of lactoferrin in type 2 diabetic pediatrics; controlling impact on PPAR- γ , SIRT-1, and TLR4 downstream signaling pathway. *Diabetol Metab Syndr*. 2018;10(1):89. doi: 10.1186/s13098-018-0390-x
36. Takayama Y, Aoki R. Roles of lactoferrin on skin wound healing. *Biochem Cell Biol*. 2012;90(3):497–503. doi: 10.1139/o11-054
37. Lyons TE, Miller MS, Serena T, et al. Talactoferrin alfa, a recombinant human lactoferrin promotes healing of diabetic neuropathic ulcers: a phase 1/2 clinical study. *Am J Surg*. 2007;193(1):49–54. doi: 10.1016/j.amjsurg.2006.07.010

Информация об авторах / Information about the authors

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия
 Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА», Москва, Россия
 Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Алексей Викторович Соколов — д-р биол. наук, заведующий лабораторией биохимической генетики отдела молекулярной генетики; старший научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследований и анализа.
 ORCID: 0000-0001-9033-0537; eLibrary SPIN: 7427-7395; e-mail: biochemsokolov@gmail.com

Alexey V. Sokolov, Dr. Sci. (Biology), Head of the Laboratory of Biochemical Genetics of the Department of Molecular Genetics; Senior Research Associate of Laboratories of Physical and Chemical Research and Analysis Methods; ORCID: 0000-0001-9033-0537; eLibrary SPIN: 7427-7395; e-mail: biochemsokolov@gmail.com

Валерия Александровна Костевич — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела молекулярной генетики; младший научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследований и анализа.
 ORCID: 0000-0002-1405-1322; eLibrary SPIN: 2726-2921; e-mail: hfa-2005@yandex.ru

Valeria A. Kostevich, Cand. Sci. (Biology), Senior Research Associate of the Department of Molecular Genetics; Junior Research Associate of Laboratories of Physical and Chemical Research and Analysis Methods. ORCID: 0000-0002-1405-1322; eLibrary SPIN: 2726-2921; e-mail: hfa-2005@yandex.ru

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия
 Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

Николай Петрович Горбунов — аспирант, научный сотрудник отдела молекулярной генетики.
 ORCID: 0000-0003-4636-0565; eLibrary SPIN: 6289-7281; e-mail: niko_laygo@mail.ru

Nikolay P. Gorbunov, postgraduate student, Research Associate of the Department of Molecular Genetics. ORCID: 0000-0003-4636-0565; eLibrary SPIN: 6289-7281; e-mail: niko_laygo@mail.ru

Ирина Витальевна Войнова — канд. биол. наук, научный сотрудник отдела молекулярной генетики.
 ORCID: 0009-0006-3690-0192; e-mail: iravoynova@mail.ru

Irina V. Voynova, Cand. Sci. (Biology), Research Associate of the Department of Molecular Genetics. ORCID: 0009-0006-3690-0192; e-mail: iravoynova@mail.ru

Вадим Борисович Васильев — д-р мед. наук, руководитель отдела молекулярной генетики.
 ORCID: 0000-0002-9707-262X; eLibrary SPIN: 6699-6350; e-mail: vadim@biokemis.ru

Vadim B. Vasilyev, MD, Dr. Sci. (Medicine), Head of the Department of Molecular Genetics. ORCID: 0000-0002-9707-262X; eLibrary SPIN: 6699-6350; e-mail: vadim@biokemis.ru

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА», Москва, Россия
 Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Виктор Андреевич Иванов — младший научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследований и анализа.
 ORCID: 0000-0003-4766-1386; eLibrary SPIN: 7531-5950; e-mail: Vanov.va@inbox.ru

Viktor A. Ivanov, Junior Research Associate of Laboratories of Physical and Chemical Research and Analysis Methods. ORCID: 0000-0003-4766-1386; eLibrary SPIN: 7531-5950; e-mail: Vanov.va@inbox.ru

Сергей Андреевич Гусев — д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследований и анализа.
 ORCID: 0000-0003-0383-2649; e-mail: ser_gus@mail.ru

Sergey A. Gusev, MD, Dr. Sci. (Medicine), Chief Research Associate of Laboratories of Physical and Chemical Research and Analysis Methods. ORCID: 0000-0003-0383-2649; e-mail: ser_gus@mail.ru

Олег Михайлович Панасенко — д-р биол. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заведующий отделом биофизики.
 ORCID: 0000-0001-5245-2285; eLibrary SPIN: 3035-6808; e-mail: o-panas@mail.ru

Oleg M. Panasenko, Dr. Sci. (Biology), Professor, Corresponding Member of the RAS, Head of Department of Biophysics. ORCID: 0000-0001-5245-2285; eLibrary SPIN: 3035-6808; e-mail: o-panas@mail.ru

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Олег Михайлович Панасенко / Oleg M. Panasenko
 Адрес: Россия, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а
 Address: 1a Malaya Pirogovskaya St., Moscow, 119435, Russia
 E-mail: o-panas@mail.ru