

Оригинальное исследование

DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ642420>

EDN: MYJHQX



Маркеры галогенирующего стресса и нетоза у больных сахарным диабетом 2-го типа

В.А. Иванов¹, А.В. Соколов^{1,2}, Н.П. Горбунов², Е.В. Михальчик¹, Л.Ю. Басырева¹, Н.В. Галкина¹, А.П. Галкина¹, Я.Б. Хорошилова¹, Т.А. Русакова¹, С.А. Гусев¹, О.М. Панасенко¹

¹ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия;

² Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Миелопероксидаза лейкоцитов катализирует образование активных форм галогенов, которые, окисляя и хлорируя биомолекулы, способствуют развитию галогенирующего стресса. Миелопероксидаза — это ключевой фермент в составе нейтрофильных внеклеточных ловушек при нетозе. Есть основания предполагать, что в условиях гипергликемии у больных сахарным диабетом 2-го типа развивается галогенирующий стресс и нетоз, которые способствуют прогрессированию заболевания и его осложнений.

Цель — оценить содержание в крови больных сахарным диабетом 2-го типа маркеров галогенирующего стресса (миелопероксидазы, хлорированного альбумина) и нетоза (нейтрофильных внеклеточных ловушек).

Методы. В исследование включали пациентов, имеющих ранее поставленный диагноз «сахарный диабет 2-го типа». Миелопероксидазу и хлорированный альбумин регистрировали в плазме крови методом иммуноферментного анализа. Подсчет нейтрофильных внеклеточных ловушек производили с использованием светового микроскопа на стандартизованных мазках цельной крови, окрашенных по Романовскому.

Результаты. Показано, что в крови больных сахарным диабетом 2-го типа достоверно увеличивается по сравнению с группой здоровых добровольцев содержание миелопероксидазы и хлорированного альбумина, что служит признаком развития галогенирующего стресса. Вместе с тем в крови больных сахарным диабетом 2-го типа зарегистрировано достоверное увеличение концентрации нейтрофильных внеклеточных ловушек по сравнению с контрольной группой здоровых добровольцев как в отсутствие активатора — форбол-12-миристан-13-ацетата, так и после его добавления в кровь, что свидетельствует об активации нетоза при сахарном диабете 2-го типа.

Заключение. Полученные результаты подтверждают гипотезу, что галогенирующий стресс, обусловленный чрезмерным увеличением концентрации/активности миелопероксидазы в крови, сопровождается развитием сахарного диабета 2-го типа, способствуя прогрессированию этого заболевания и его осложнений.

Ключевые слова: сахарный диабет; гипергликемия; миелопероксидаза; активные формы галогенов; галогенирующий стресс; окислительный стресс; нейтрофилы; нетоз.

Как цитировать

Иванов В.А., Соколов А.В., Горбунов Н.П., Михальчик Е.В., Басырева Л.Ю., Галкина Н.В., Галкина А.П., Хорошилова Я.Б., Русакова Т.А., Гусев С.А., Панасенко О.М. Маркеры галогенирующего стресса и нетоза у больных сахарным диабетом 2-го типа // Медицинский академический журнал. 2025. Т. 25. № 2. С. 68–75. DOI: 10.17816/MAJ642420 EDN: MYJHQX

Original Study Article

DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ642420>

EDN: MYJHGX

Markers of Halogenating Stress and NETosis in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus

Viktor A. Ivanov¹, Alexey V. Sokolov^{1,2}, Nikolay P. Gorbunov², Elena V. Mikhalechik¹, Liliya Yu. Basyreva¹, Natalia V. Galkina¹, Anna P. Galkina¹, Yana B. Khoroshilova¹, Tatiana A. Rusakova¹, Sergey A. Gusev¹, Oleg M. Panasenko¹

¹ Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia;

² Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Leukocyte myeloperoxidase catalyzes the formation of reactive halogen species, which oxidize and chlorinate biomolecules, thereby contributing to the development of halogenating stress. Myeloperoxidase is a key enzyme in neutrophil extracellular traps (NETs) during NETosis. There is reason to believe that under hyperglycemic conditions in patients with type 2 diabetes mellitus, halogenating stress and NETosis develop, which contribute to disease progression and complications.

AIM: The work aimed to assess the levels of blood markers of halogenating stress (myeloperoxidase, chlorinated albumin) and NETosis (neutrophil extracellular traps) in patients with type 2 diabetes mellitus.

METHODS: The study included patients with a previously established diagnosis of type 2 diabetes mellitus. Myeloperoxidase and chlorinated albumin in plasma were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The number of neutrophil extracellular traps was determined using light microscopy on standardized whole-blood smears stained according to Romanowsky.

RESULTS: In patients with type 2 diabetes mellitus, blood levels of myeloperoxidase and chlorinated albumin were significantly higher than in the group of healthy volunteers, indicating the development of halogenating stress. At the same time, in the blood of patients with type 2 diabetes mellitus, a significant increase in the concentration of neutrophil extracellular traps was recorded compared to the control group of healthy volunteers, both in the absence of the activator—phorbol 12-myristate 13-acetate—and after its addition to the blood, indicating activation of NETosis in type 2 diabetes mellitus.

CONCLUSION: The findings support the hypothesis that halogenating stress, caused by an excessive increase in blood myeloperoxidase concentration/activity, accompanies the development of type 2 diabetes mellitus and contributes to its progression and complications.

Keywords: diabetes mellitus; hyperglycemia; myeloperoxidase; reactive halogen species; halogenating stress; oxidative stress; neutrophils; NETosis.

To cite this article

Ivanov VA, Sokolov AV, Gorbunov NP, Mikhalechik EV, Basyreva LYu, Galkina NV, Galkina AP, Khoroshilova YaB, Rusakova TA, Gusev SA, Panasenko OM. Markers of Halogenating Stress and NETosis in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Medical Academic Journal*. 2025;25(2):68–75. DOI: 10.17816/MAJ642420 EDN: MYJHGX

Submitted: 01.12.2024

Accepted: 09.12.2024

Published online: 23.06.2025

ОБОСНОВАНИЕ

Галогенирующий стресс характеризуется дисбалансом между усиленным образованием в организме галоген-содержащих реакционных соединений, так называемых активных форм галогенов (АФГ), и сниженной способностью организма удалять или нейтрализовать их избыточное количество [1–3]. АФГ образуются в реакциях окисления галогенидов (Cl^- , Br^- , I^-) пероксидом водорода, катализируемых, главным образом, ферментом лейкоцитов миелопероксидазой (МПО), и представляют собой соответствующие гипогалоидные кислоты (НОСl, НОВr, НОI). Это сильные окислители и галогенирующие агенты, способные модифицировать все основные классы биологических молекул: нуклеиновые кислоты, белки, ферменты, липиды, углеводы и др. [1, 4]. Это вызывает повреждение клеток и тканей, способствуя развитию заболеваний, как правило, сопровождающихся воспалительными осложнениями [3, 4].

Одно из таких заболеваний — сахарный диабет (СД), характеризуется нарушением усвоения глюкозы клетками организма, сопровождается высоким риском развития воспалительных осложнений, затрагивающих различные органы и ткани. Особенно значимы диабетическая полинейропатия, ретинопатия, нефропатия, а также трофические изменения различной локализации [5]. Стойкое увеличение содержания глюкозы в крови, иногда достигающее 20 ммоль/л, сопровождается неферментативным гликозилированием, включающим в себя множество параллельных и последовательных реакций, часто в совокупности называемых реакцией Майяра [6]. На финальной стадии образуются конечные продукты гликирования (КПГ) [7]. Доказано, что КПГ играют ключевую роль в иницировании окислительного стресса, повреждении клеток, развитии эндотелиальной дисфункции, они служат потенциальным биомаркером СД [8].

При окислении и хлорировании белков плазмы крови под действием АФГ (в основном хлорноватистой кислоты — НОСl) образуются продукты, идентичные по своим характеристикам КПГ [9, 10]. Содержание таких продуктов в крови больных СД значительно повышено [11], что дает повод предположить участие МПО в патогенезе СД.

МПО высвобождается во внеклеточное пространство главным образом при дегрануляции нейтрофилов [12] и при нетозе [13]. Считается, что МПО — необходимый фактор для формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) при нетозе [14]. Будучи встроенной в НВЛ, МПО продолжает катализировать образование АФГ, в основном НОСl. Один из маркеров галогенирующего стресса — хлорированный альбумин сыворотки крови человека (ЧСА-Cl) — образуется при действии НОСl на ЧСА [2]. В условиях *in vitro* ЧСА-Cl активирует нейтрофилы, вызывает повышенную продукцию активных форм кислорода, дегрануляцию МПО, стимулирует нетоз [15, 16].

Установлено, что чрезмерный нетоз играет существенную роль в развитии СД 2-го типа (СД2) и его осложнений [17–19].

Таким образом, накопившиеся в литературе данные позволяют предположить, что фермент азурофильных гранул нейтрофилов МПО может быть причастен к развитию инсулиннезависимого СД2 и его осложнений. Однако литературные данные по концентрации и активности МПО при СД2, а также о ее причастности к этому заболеванию немногочисленны и противоречивы, они демонстрируют как повышенную [20–25], так и пониженную [26–28] концентрацию/активность МПО в различных тканях и клинических ситуациях.

Показано повышение в крови больных СД2 по сравнению с кровью здоровых добровольцев концентрации МПО, ЧСА-Cl, НВЛ. Такой результат дает основание предполагать, что МПО принимает непосредственное участие в развитии галогенирующего стресса и нетоза, усугубляя тяжесть течения СД2.

Цель — оценить содержание в крови больных СД2 маркеры галогенирующего стресса (МПО, ЧСА-Cl) и нетоза (НВЛ).

МЕТОДЫ

Реактивы. 3,3',5,5'-Тетраметилбензидин (ТМБ), форбол-12-миристан-13-ацетат (ФМА), 1-хлор-2,4-динитробензол, глутатион восстановленный (GSH) были получены от Sigma-Aldrich (США), пероксидаза из корней хрена — от Amresco (США). Остальные реактивы фирмы Раехим (Россия). Антитела против исследуемых белков (МПО, ЦП, ЧСА-Cl) получены при иммунизации мышей и кроликов [29, 30].

Характеристика пациентов. В исследование включали пациентов, имеющих поставленный диагноз СД2 и гипергликемию ($n=22$), возраст 32–72 года. В исследование не включали пациентов, имеющих сопутствующие хронические (онкологические, метаболические), гемотрансмиссивные заболевания, а также принимающих нестероидные противовоспалительные и гормональные препараты. Контрольная группа ($n=19$) была сформирована из здоровых добровольцев в возрасте 22–61 год, не имеющих в анамнезе диагноза СД, иных метаболических, воспалительных или онкологических, а также гемотрансмиссивных заболеваний. Допустимая концентрация глюкозы в крови натощак составляла 4,0–5,6 ммоль/л. Забор крови проводили натощак в рамках плановых венепункций в вакуумные пробирки с $\text{K}_3\text{ЭДТА}$. Непосредственно в процессе забора крови измеряли концентрацию глюкозы электрохимическим методом с применением портативного глюкометра Accu-Chek. Уровень гликированного гемоглобина определяли нефелометрическим методом на приборе Accent M320 с применением коммерческого набора реагентов Accent200 HbA1 #7-111.

Определение маркеров галогенирующего стресса. МПО в плазме крови определяли методом сэндвич-ИФА с последовательной сорбцией на твердую фазу и промывкой добавленных в планшеты моноклональных анти-МПО антител 1#8, МПО из образцов плазмы или стандартов МПО и меченых пероксидазой анти-МПО антител 2#7 [31]. Регистрировали окисление хромогенного субстрата, содержащего ТМБ и пероксид водорода, а затем определяли концентрацию МПО в образцах по градуировочному графику стандартов МПО.

ЧСА-С1 определяли методом сэндвич-ИФА с последовательной сорбцией на твердую фазу и промывкой добавленных в планшеты антител 1Н2, ЧСА-С1 из образцов плазмы или стандартов ЧСА-С1, конъюгированных с пероксидазой вторичных поликлональных антител против ЧСА. Регистрировали окисление хромогенного субстрата, содержащего ТМБ и пероксид водорода, а затем определяли концентрацию ЧСА-С1 в образцах по градуировочному графику стандартов ЧСА-С1.

Комплексы МПО с церулоплазмином (МПО–ЦП) определяли методом ИФА с последовательной сорбцией на твердую фазу и промывкой добавленных в планшеты анти-МПО 2#7, МПО–ЦП из образцов плазмы или стандартов МПО–ЦП, конъюгированных с пероксидазой хрена вторичных анти-ЦП антител. Регистрировали окисление хромогенного субстрата, содержащего ТМБ и пероксид водорода, а затем определяли концентрацию МПО–ЦП в образцах по градуировочному графику стандартов МПО–ЦП.

Подсчет НВЛ производили с использованием светового микроскопа на стандартизованных мазках цельной крови, окрашенных по Романовскому. В средней трети площади мазков подсчитывали количество лейкоцитов и НВЛ. Количество НВЛ представляли в процентах по отношению к лейкоцитам [19].

Определение параметров, характеризующих окислительный стресс. Концентрацию свободных SH-групп измеряли в плазме крови с помощью реактива Элмана [32] и нормировали на концентрацию белка, определяемую методом Лоури. Активность глутатионпероксидазы (GSH-Px) эритроцитов измеряли в лизате эритроцитарной массы по убыли GSH и нормировали на концентрацию гемоглобина (Hb) [33]. Гемоглобин оценивали по реакции с ацетонциангидрином с использованием набора «Гемоглобин Агат» производства ООО «АГАТ-Мед» (Москва, Россия). Для оценки активности глутатион-S-трансферазы (GSH-ST) в гемолизованных эритроцитах использовали метод, основанный на определении скорости ферментативного образования глутатион-S-2,4-динитробензола в реакции восстановленного глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом по поглощению образующегося продукта при 340 нм [34].

Выделение эритроцитов. Эритроциты осаждали центрифугированием крови при 400 g в течение 10 мин и дважды промывали 0,15 М раствором NaCl, после чего

лизировали добавлением к отмытой эритроцитарной массе 10-кратного объема дистиллированной воды (4°C). Лизат использовали для оценки активности GSH-Px, GSH-ST и концентрации гемоглобина.

Статистическую обработку результатов проводили при помощи программ MS Excel (Microsoft Corp.) и пакета программ Statistica 12.0 (StatSoft Inc.). 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 И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведены результаты измерения в крови здоровых добровольцев и пациентов, страдающих СД2, концентрации МПО, ЧСА-С1, а также комплексов МПО–ЦП. Видно, что уровень МПО в крови больных СД2 достоверно выше по сравнению с кровью здоровых добровольцев (рис. 1, а). При этом концентрация комплексов МПО–ЦП в крови больных не отличается от таковой у добровольцев (рис. 1, с). Известно, что ЦП — природный ингибитор МПО. Он связывается с МПО в прочный комплекс [35], ингибируя ее галогенирующую и пероксидазную активность, ограничивая доступ субстрата к активному центру МПО [36, 37]. Принимая этот факт во внимание, можно предположить, что в крови больных СД2 по сравнению с кровью здоровых добровольцев большая часть МПО находится в несвязанном с ЦП состоянии, обладая полноценной ферментативной активностью. Повышенное содержание свободной и активной МПО должно приводить к усиленному образованию НОС1 и, как следствие, к хлорированию мишеней, находящихся в крови. Об этом свидетельствует результат, приведенный на рис. 1, b, где показано, что концентрация маркера галогенирующего стресса ЧСА-С1 в крови больных СД2 значительно превосходит таковую в крови здоровых добровольцев.

Важный сопутствующий фактор в развитии осложнений СД2, препятствующий заживлению ран, — нетоз [17–19]. МПО, будучи встроенной в НВЛ и продолжая катализировать образование АФГ, не только проявляет там бактерицидную активность, но и способствует развитию галогенирующего стресса. В табл. 1 приведены результаты измерения концентрации НВЛ в крови здоровых добровольцев и пациентов, страдающих СД2, до и после добавления активатора нейтрофилов ФМА. Видно, что как базовый уровень НВЛ (без добавления активатора), так и концентрация НВЛ после активации нетоза добавлением ФМА в крови больных СД2 достоверно выше по сравнению с кровью здоровых добровольцев.

Нами также были измерены параметры, характеризующие антиокислительный статус крови, а именно концентрация тиолов в плазме и активность GSH-Px

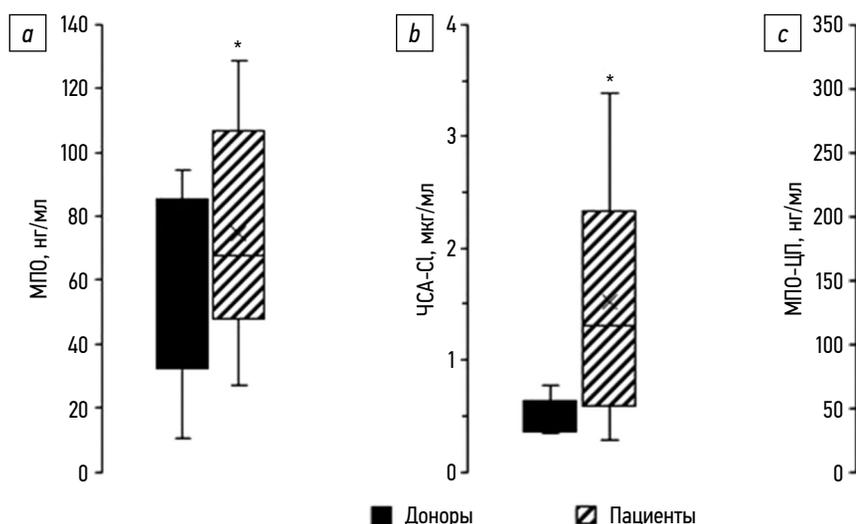


Рис. 1. Концентрация миелопероксидазы (МПО) (а), хлорированного альбумина (ЧСА-Cl) (б) и комплексов МПО с церулоплазмином (МПО-ЦП) (с) в плазме здоровых добровольцев и пациентов, страдающих сахарным диабетом 2-го типа. * $p < 0,05$ по сравнению с образцами здоровых добровольцев.

Fig. 1. Concentrations of myeloperoxidase (MPO) (a), chlorinated serum albumin (CSA-Cl) (b), and MPO-ceruloplasmin complexes (MPO-CP) (c) in the plasma of healthy volunteers and patients with type 2 diabetes mellitus. * $p < 0.05$ compared with samples from healthy volunteers.

Таблица 1. Содержание глюкозы, гликированного гемоглобина, тиолов в плазме крови, нейтрофильных внеклеточных ловушек в цельной крови, а также активность глутатионпероксидазы (GSH-Px) и глутатион-S-трансферазы (GSH-ST) в эритроцитах здоровых добровольцев и пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (СД2) [мин.–макс. (медиана)]

Table 1. Blood plasma glucose, glycated hemoglobin, and thiol content; neutrophil extracellular traps in whole blood; and glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione S-transferase (GSH-ST) activity in erythrocytes of healthy volunteers and patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) (min–max [median])

Показатель	Здоровые добровольцы (n=19)	Пациенты с СД2 (n=22)	Различия по критерию Манна-Уитни, значение p
Глюкоза, ммоль/л	3,2–5,6 (5,1)	2,6–14,8 (7,6)	$p < 0,001$
Гликированный гемоглобин, %	4,4–6,3 (5,0)	4,8–9,6 (6,6)	$p < 0,05$
Нейтрофильные внеклеточные ловушки, %			
без ФМА	3,2–4,9 (4,0)	1,7–10,8 (6,4)	$p < 0,05$
+ ФМА	7,7–9,1 (8,0)	4,0–17,9 (11,6)	$p < 0,05$
Тиолы, мг/г белка	0,10–0,49 (0,14)	0,04–0,21 (0,10)	$p < 0,05$
GSH-Px, ммоль/(мин×г гемоглобина)	7,9–21,2 (17,5)	2,1–20,2 (16,1)	$p > 0,05$
GSH-ST, мкмоль/(мин×г гемоглобина)	0,6–1,5 (0,94)	0,5–1,9 (1,2)	$p > 0,05$

Примечание. ФМА — форбол-12-миристат-13-ацетат.

и GSH-ST в эритроцитах. Результаты приведены в табл. 1. Видно, что уровень тиолов в плазме крови достоверно снижен у больных СД2 по сравнению со здоровыми добровольцами. Такой результат должен способствовать развитию галогенирующего стресса, поскольку известно, что тиолы — эффективные перехватчики АФГ [2, 3]. В то же время, как видно из таблицы, активность антиокислительных GSH-зависимых ферментов у пациентов, страдающих СД2, практически не отличалась от таковой у здоровых добровольцев, что хорошо согласуется с опубликованными ранее результатами [38, 39]. Тем не менее нами была зарегистрирована достоверная отрицательная корреляционная зависимость ($r = -0,65$, $p < 0,05$) между концентрацией глюкозы в крови и активностью GSH-Px в эритроцитах больных СД2 (рис. 2), свидетельствующая о том, что гипергликемия угнетает активность антиокислительного фермента GSH-Px.

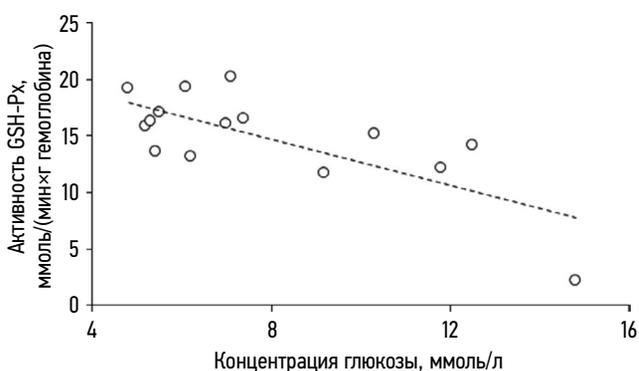


Рис. 2. Корреляция между концентрацией глюкозы в крови и активностью глутатионпероксидазы (GSH-Px) в эритроцитах пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. $r = -0,65$; $p < 0,05$.

Fig. 2. Correlation between blood glucose concentration and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in erythrocytes of patients with type 2 diabetes mellitus. $r = -0.65$; $p < 0.05$.

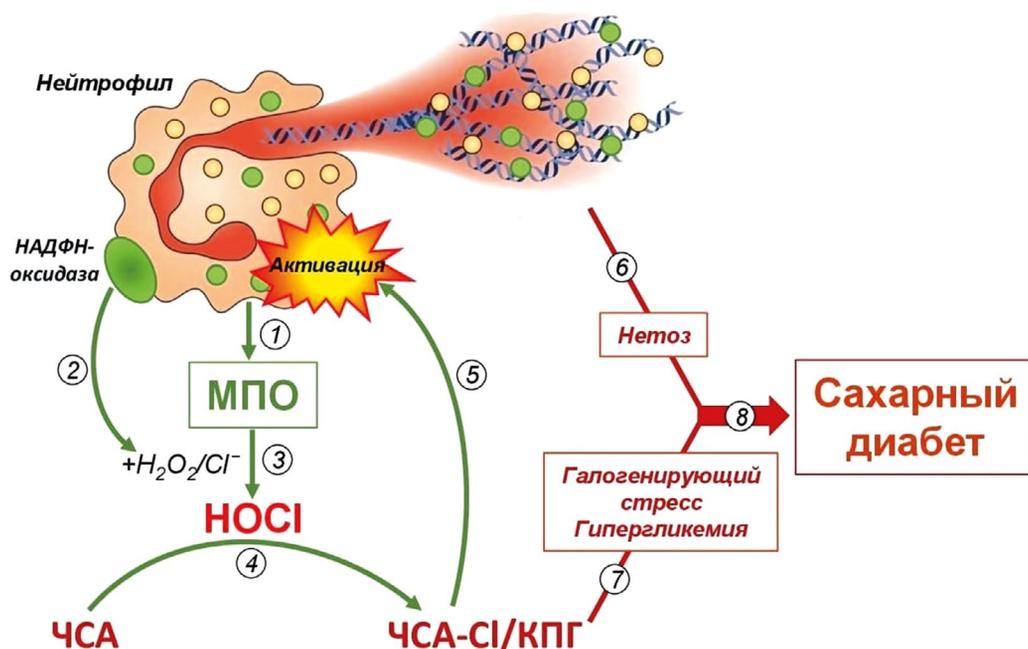


Рис. 3. Роль галогенирующего стресса и нетоза в прогрессировании сахарного диабета 2-го типа и его осложнений. Пояснения см. в тексте.

Fig. 3. Role of halogenating stress and NETosis in the progression of type 2 diabetes mellitus and its complications. See text for details.

Результаты исследования представлены на рис. 3. Активация нейтрофилов сопровождается секрецией гранулярных белков, в том числе МПО во внеклеточное пространство (1). НАДФН-оксидаза при активации нейтрофилов продуцирует O_2^- , который дисмутирует до H_2O_2 (2). МПО в присутствии $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Cl}^-$ катализирует образование HOCl (3). Последний модифицирует ЧСА, превращая его в ЧСА-С1 со свойствами КПГ (4). ЧСА-С1/КПГ усугубляют активацию нейтрофилов (5), с одной стороны, усиливая экзоцитоз МПО (1) и стимулируя НАДФН-оксидазу (2), с другой — активируют нетоз (6). Образование галогенированных белков и КПГ — верный признак галогенирующего стресса и гипергликемии (7), которые вместе с нетозом способствуют прогрессированию СД2 и его осложнений (8).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты подтверждают гипотезу, что галогенирующий стресс, обусловленный чрезмерным увеличением концентрации/активности МПО в крови, сопровождается развитием СД2, способствуя прогрессированию этого заболевания и его осложнений.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. А.В. Соколов, О.М. Панасенко — концепция и дизайн исследования, редактирование статьи; А.В. Соколов, В.А. Иванов, Е.В. Михальчик, Л.Ю. Басырева, Н.П. Горбунов — постановка экспериментов; Н.В. Галкина, А.П. Галкина, Я.Б. Хорошилова, Т.А. Русакова — формирование групп пациентов и здоровых добровольцев, забор крови, характеристика пациентов; О.М. Панасенко, В.А. Иванов, С.А. Гусев, А.В. Соколов, Е.В. Михальчик — написание текста, оформление графиков, таблицы. Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все

аспекты настоящей работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

Этическая экспертиза. Исследование проводилось в соответствии с международными этическими рекомендациями и получило одобрение локального этического комитета ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина ФМБА России» (протокол № 2022/10/05 от 05.10.2022). Исследование и его протокол не регистрировали.

Согласие на публикацию. У всех пациентов и здоровых добровольцев было получено информированное согласие на участие в исследовании.

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

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

Доступ к данным. Все данные, полученные в настоящем исследовании, доступны в статье.

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовались.

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали внешний и внутренний рецензенты.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contributions: A.V. Sokolov, O.M. Panasenko: conceptualization, methodology, writing—review & editing; A.V. Sokolov, V.A. Ivanov, E.V. Mikhailchik, L.Yu. Basyreva, N.P. Gorbunov: investigation; N.V. Galkina, A.P. Galkina, Ya.B. Khoroshilova, T.A. Rusakova: resources, investigation; O.M. Panasenko, V.A. Ivanov, S.A. Gusev, A.V. Sokolov, E.V. Mikhailchik: writing—original draft, visualization. All authors approved the version of the manuscript to be published, and agreed to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of it are appropriately reviewed and resolved.

Ethics approval: The study was conducted in accordance with international ethical guidelines and was approved by the Local Ethics Committee of the Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency (protocol No. 2022/10/05 dated October 5, 2022). The study and its protocol were not registered.

Consent for publication: All patients and healthy volunteers provided written informed consent to participate in the study.

Funding sources: This study was supported by the Russian Science Foundation, project No. 20-15-00390-P.

Disclosure of interest: The authors have no relationships, activities or interests for the last three years related with for-profit

or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

Statement of originality: The authors did not use any previously published information (text, illustrations, or data) in this work.

Data availability statement: All data generated during this study are included in this article.

Generative AI: Generative AI technologies were not used for this article creation.

Provenance and peer-review: This paper was submitted unsolicited and reviewed following the standard procedure. The review process involved an external reviewer and an in-house reviewer.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Panasenko OM, Sergienko VI. Halogenizing stress and its biomarkers. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2010;(1):27–39. EDN: MBCLFX
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, 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
4. Panasenko OM, Vladimirov YuA, Sergienko VI. Free radical lipid peroxidation induced by reactive halogen species. *Biochemistry (Moscow)*. 2024;89(S1):S148–S179. EDN: NLFRAV doi: 10.1134/S0006297924140098
5. Meeuwisse-Pasterkamp SH, van der Klauw MM, Wolffenbuttel BH. Type 2 diabetes mellitus: prevention of macrovascular complications. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2008;6(3):323–341. doi: 10.1586/14779072.6.3.323
6. John WG, Lamb EJ. The Maillard or browning reaction in diabetes. *Eye (Lond)*. 1993;7:230–237. doi: 10.1038/eye.1993.55
7. Singh K, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*. 2001;44(2):129–146. doi: 10.1007/s001250051591
8. Twarda-Clapa A, Olczak A, Białkowska AM, Koziółkiewicz M. Advanced glycation end-products (AGEs): formation, chemistry, classification, receptors, and diseases related to AGEs. *Cells*. 2022;11(8):1312. doi: 10.3390/cells11081312
9. Anderson MM, Hazen SL, Hsu FF, Heinecke JW. Human neutrophils employ the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system to convert hydroxy-amino acids into glycolaldehyde, 2-hydroxypropanal, and acrolein. A mechanism for the generation of highly reactive alpha-hydroxy and alpha, beta-unsaturated aldehydes by phagocytes at sites of inflammation. *J Clin Invest*. 1997;99(3):424–432. doi: 10.1172/JCI119176
10. Anderson MM, Requena JR, Crowley JR, et al. The myeloperoxidase system of human phagocytes generates Nepsilon-(carboxymethyl)lysine on proteins: a mechanism for producing advanced glycation end products at sites of inflammation. *J Clin Invest*. 1999;104(1):103–113. doi: 10.1172/JCI3042
11. Piwowar A. Advanced oxidation protein products. Part I. Mechanism of the formation, characteristics and property. *Pol Merkur Lekarski*. 2010;28(164):166–169.
12. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol*. 2005;77(5):598–625. doi: 10.1189/jlb.1204697
13. 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
14. Metzler KD. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity. *Blood*. 2011;117(3):953–959. doi: 10.1182/blood-2010-06-290171
15. Gorudko IV, Grigorieva DV, Shamova EV, et al. Hypohalous acid-modified human serum albumin induces neutrophil NADPH oxidase activation, degranulation, and shape change. *Free Radic Biol Med*. 2014;68:326–334. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.12.023
16. Basyreva LYu, Shmeleva EV, Vakhrusheva TV, et al. Hypochlorous acid-modified serum albumin causes NETosis in whole blood *ex vivo* and isolated neutrophils. *Bull Exp Biol Med*. 2024;177(2):197–202. doi: 10.1007/s10517-024-06155-3
17. Mikhalechik EV, Maximov DI, Ostrovsky EM, et al. Neutrophils as a source of factors increasing duration of the inflammatory phase of wound healing in patients with type 2 diabetes mellitus. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. 2019;13(1):68–73. EDN: AZQLZP doi: 10.1134/S19907508191010098
18. Giovenzana A, Carnovale D, Phillips B, et al. Neutrophils and their role in the aetiopathogenesis of type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2022;38(1):e3483. doi: 10.1002/dmrr.3483
19. Basyreva LY, Vakhrusheva TV, Letkeman ZV, et al. Effect of vitamin D3 in combination with omega-3 polyunsaturated fatty acids on NETosis in type 2 diabetes mellitus patients. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:8089696. doi: 10.1155/2021/8089696
20. 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
21. Rovira-Llopis S, Rocha M, Falcon R, et al. Is myeloperoxidase a key component in the ROS-induced vascular damage related to nephropathy in type 2 diabetes? *Antioxid Redox Signal*. 2013;19(13):1452–1458. doi: 10.1089/ars.2013.5307
22. 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.
23. Gorudko IV, Kostevich AV, Sokolov AV, et al. Increased myeloperoxidase activity is a risk factor for ischemic heart disease in patients with diabetes mellitus. *Biochemistry (Moscow). Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. 2011;5(3):307–312. EDN: PEDJQJ doi: 10.1134/S199075081103005X
24. Moldoveanu E, Tanaseanu C, Tanaseanu S, et al. Plasma markers of endothelial dysfunction in type 2 diabetics. *Eur J Intern Med*. 2006;17(1):38–42. doi: 10.1016/j.ejim.2005.09.015
25. Gómez-García A, Rodríguez MR, Gómez-Alonso C, et al. Myeloperoxidase is associated with insulin resistance and inflammation in overweight subjects with first-degree relatives with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab J*. 2015;39(1):59–65. doi: 10.4093/dmj.2015.39.1.59
26. Sato N, Shimizu H, Suwa K, et al. MPO activity and generation of active O₂ species in leukocytes from poorly controlled diabetic patients. *Diabetes Care*. 1992;15(8):1050–1052. doi: 10.2337/diacare.15.8.1050
27. Uchimura K, Nagasaka A, Hayashi R, et al. Changes in superoxide dismutase activities and concentrations and myeloperoxidase activities in leukocytes from patients with diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 1999;13(5–6):264–270. doi: 10.1016/s1056-8727(99)00053-7
28. de Souza Ferreira C, Araújo TH, Ângelo ML, et al. Neutrophil dysfunction induced by hyperglycemia: modulation of myeloperoxidase activity. *Cell Biochem Funct*. 2012;30(7):604–610. doi: 10.1002/cbf.2840
29. Sokolov AV, Kostevich VA, Gorbunov NP, et al. A link between active myeloperoxidase and chlorinated ceruloplasmin in blood plasma of patients with cardiovascular diseases. *Medical Immunology (Russia)*. 2018;(20):699–710. EDN: YLTKTR doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-699-710
30. Lutsenko VE, Grigorieva DV, Gorudko IV, et al. Celestine blue B as a sensor for hypochlorous acid and HOCl-modified proteins registration. *Medical Academic Journal*. 2019;19(2):63–71. EDN: IFDQNE doi: 10.17816/MAJ19263-71

31. Churashova IA, Sokolov AV, Kostevich VA, et al. Myeloperoxidase/high-density lipoprotein cholesterol ratio in patients with arterial hypertension and chronic coronary heart disease. *Medical Academic Journal*. 2021;21(2):75–86. EDN: PLCEQJ doi: 10.17816/MAJ71486
32. 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
33. 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.)
34. Karpishchenko AI, editor. *Medical laboratory technologies*. In 2 Vol. Saint Petersburg: Intermedika; 1999. Vol. 2. P. 23–24. (In Russ.)
35. Samygina VR, Sokolov AV, Bourenkov G, et al. Ceruloplasmin: macromolecular assemblies with iron-containing acute phase proteins. *PLoS One*. 2013;8(7):e67145. doi: 10.1371/journal.pone.0067145

36. Panasenko OM, Chekanov AV, Vlasova II, et al. Influence of ceruloplasmin and lactoferrin on the chlorination activity of leukocyte myeloperoxidase assayed by chemiluminescence. *Biophysics*. 2008;53(4):268–272. EDN: LLIDID doi: 10.1134/S0006350908040052
37. Sokolov AV, Ageeva KV, Pulina MO, et al. Ceruloplasmin and myeloperoxidase in complex affect the enzymatic properties of each other. *Free Radic Res*. 2008;42(11–12):221–227. doi: 10.1080/10715760802566574
38. Akkuş I, Kalak S, Vural H, et al. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 1996;244(2):221–227. doi: 10.1016/0009-8981(96)83566-2
39. Ergin M, Aydin C, Yurt EF, et al. The variation of disulfides in the progression of type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2020;128(2):77–81. doi: 10.1055/s-0044-100376

ОБ АВТОРАХ

Иванов Виктор Андреевич;

ORCID: 0000-0003-4766-1386;
eLibrary SPIN: 7531-5950;
e-mail: Vanov.va@inbox.ru

Соколов Алексей Викторович, д-р биол. наук;

ORCID: 0000-0001-9033-0537; eLibrary SPIN: 7427-7395;
e-mail: biochemsokolov@gmail.com

Горбунов Николай Петрович;

ORCID: 0000-0003-4636-0565; eLibrary SPIN: 6289-7281;
e-mail: niko_laygo@mail.ru

Михальчик Елена Владимировна, д-р биол. наук;

ORCID: 0000-0002-6431-125X; eLibrary SPIN: 8896-4697;
e-mail: lemik2007@yandex.ru

Басырева Лилия Юрьевна, канд. хим. наук;

ORCID: 0000-0002-5170-9824; eLibrary SPIN: 9680-9712;
e-mail: basyreva@mail.ru

Галкина Наталья Владимировна, канд. мед. наук;

ORCID: 0009-0006-5800-8015;
e-mail: Nataliazv.gorod@mail.ru

Галкина Анна Петровна;

ORCID: 0009-0004-9076-4799;
e-mail: Anyagalkina01@mail.ru

Хорошилова Яна Борисовна;

ORCID: 0009-0002-5595-2415;
e-mail: Yanka2603@yandex.ru

Русакова Татьяна Александровна;

ORCID: 0009-0006-9451-1291;
e-mail: Tanyarusakova93@mail.ru

Гусев Сергей Андреевич, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: 0000-0003-0383-2649;
e-mail: ser_gus@mail.ru

* Панасенко Олег Михайлович,

д-р биол. наук, профессор, чл.-корр. РАН;
адрес: Россия, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а;
ORCID: 0000-0001-5245-2285; eLibrary SPIN: 3035-6808;
e-mail: o-panas@mail.ru

AUTHORS INFO

Viktor A. Ivanov;

ORCID: 0000-0003-4766-1386;
eLibrary SPIN: 7531-5950;
e-mail: Vanov.va@inbox.ru

Alexey V. Sokolov, Dr. Sci. (Biology);

ORCID: 0000-0001-9033-0537; eLibrary SPIN: 7427-7395;
e-mail: biochemsokolov@gmail.com

Nikolay P. Gorbunov;

ORCID: 0000-0003-4636-0565; eLibrary SPIN: 6289-7281;
e-mail: niko_laygo@mail.ru

Elena V. Mikhailchik, Dr. Sci. (Biology);

ORCID: 0000-0002-6431-125X; eLibrary SPIN: 8896-4697;
e-mail: lemik2007@yandex.ru

Liliya Yu. Basyreva, Cand. Sci. (Chemistry);

ORCID: 0000-0002-5170-9824; eLibrary SPIN: 9680-9712;
e-mail: basyreva@mail.ru

Natalia V. Galkina, MD, Cand. Sci. (Medicine);

ORCID: 0009-0006-5800-8015;
e-mail: Nataliazv.gorod@mail.ru

Anna P. Galkina;

ORCID: 0009-0004-9076-4799;
e-mail: Anyagalkina01@mail.ru

Yana B. Khoroshilova, MD;

ORCID: 0009-0002-5595-2415;
e-mail: Yanka2603@yandex.ru

Tatiana A. Rusakova, MD;

ORCID: 0009-0006-9451-1291;
e-mail: Tanyarusakova93@mail.ru

Sergey A. Gusev, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;

ORCID: 0000-0003-0383-2649;
e-mail: ser_gus@mail.ru

* Oleg M. Panasenko, Dr. Sci. (Biology), Professor,

Corresponding Member of the RAS;
address: 1a Malaya Pirogovskaya st, Moscow, 119435, Russia;
ORCID: 0000-0001-5245-2285; eLibrary SPIN: 3035-6808;
e-mail: o-panas@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author