

© Коллектив авторов, 2025

УДК 616-008

Карганов М.Ю.<sup>1</sup>, Алчинова И.Б.<sup>1</sup>, Деморжи М.С.<sup>1</sup>, Черепов А.Б.<sup>1</sup>, Метёлкин А.А.<sup>1</sup>, Онищенко Н.А.<sup>2</sup>,  
Никольская А.О.<sup>2</sup>, Степанова О.И.<sup>3</sup>, Клёсов Р.А.<sup>3</sup>, Семёнов Х.Х.<sup>3</sup>, Проценко А.Н.<sup>4</sup>, Нестеренко М.В.<sup>5</sup>, Басок Ю.Б.<sup>2</sup>

## Изменения метаболизма и состояния клеток системы крови и костного мозга при курсовом применении Лактоферрина на различных этапах развития сахарного диабета 2 типа

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, 123182, Москва, Россия, ул. Щукинская, д. 1;

<sup>3</sup>ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России, 143442, МО, Красногорский р-н, п. Светлые горы, Россия, д. 1;

<sup>4</sup>ИКМ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117513, Москва, ул. Островитянова, д. 1;

<sup>5</sup>ООО «Лактобио», 119331, Москва, Россия, просп. Вернадского, д. 29

**Цель** – изучить динамику метаболизма и состояние клеток крови и костного мозга при курсовом применении Лактоферрина (Лф) в различные периоды прогрессирующего развития сахарного диабета 2 типа (СД2).

**Методика.** Опыты выполнены на 40 мышах db/db с генетической моделью СД2 и на 10 мышах db/+m (здоровый контроль). Мыши db/db составили 2 группы: 1 – СД2 контроль ( $n=10$ ); 2 – состояла из 3 подгрупп с СД2 ( $n=30$ ), в которых применяли 1% питьевой раствор Лф сроком до 2 мес на 3-х стадиях различной степени тяжести состояния животного: I стадия адаптации; II стадия прогрессирующей дезадаптации; III стадия декомпенсации. На этих стадиях в динамике исследовали уровень глюкозы в крови, вес животного, показатель окислительного метаболизма (ПОМ) в тканях, состояние клеток крови и костного мозга. Статистическую обработку результатов проводили с предварительным использованием теста Шапиро–Уилкса. Достоверность различий с контролем оценивали с помощью параметрического критерия  $t$ -Стьюдента, при  $p<0,05$ .

**Результаты.** Применение Лф на I и II стадиях СД2 стабилизировало уровень глюкозы и вес животных, а после отмены Лф способствовало нормализации этих показателей. К концу применения Лф на III стадии СД2 эти показатели резко снижались, и животные быстро погибали. ПОМ при введении Лф на I, II и III стадиях СД2 всегда снижался, но после отмены Лф – ПОМ повышался и становился выше исходного уровня на I и II стадиях СД2. Соответствующие стресс-адаптивные изменения были выявлены также для клеток крови и костного мозга, развитие которых осуществлялось при участии механизмов программируемой гибели клеток

**Заключение.** Лактоферрин при курсовом применении для коррекции клинических проявлений СД2 действует как мощный адаптоген и способен оказать адьювантное воздействие на метаболизм и состояние клеток системы крови и костного мозга, но лишь при сохранившихся в организме адаптационных резервах.

**Ключевые слова:** сахарный диабет; Лактоферрин; окислительно-восстановительные процессы; клетки крови; костный мозг

**Для цитирования:** Карганов М.Ю., Алчинова И.Б., Деморжи М.С., Черепов А.Б., Метёлкин А.А., Онищенко Н.А., Никольская А.О., Степанова О.И., Клёсов Р.А., Семёнов Х.Х., Проценко А.Н., Нестеренко М.В., Басок Ю.Б. Изменения метаболизма и состояния клеток системы крови и костного мозга при курсовом применении Лактоферрина на различных этапах развития сахарного диабета 2 типа. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(1): 14–28.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.14-28

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Онищенко Н.А., Карганов М.Ю.; сбор материала – Степанова О.И., Клёсов Р.А., Никольская А.О.; техническая подготовка материала – Алчинова И.Б., Деморжи М.С., Черепов А.Б., Метёлкин А.А., Степанова О.И., Клёсов Р.А., Никольская А.О., Семенов Х.Х., Нестеренко М.В.; подготовка иллюстративного материала к публикации – Алчинова И.Б., Черепов А.Б., Степанова О.И., Никольская А.О.; написание текста – Онищенко Н.А.; редактирование – Карганов М.Ю., Басок Ю.Б. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

**Для корреспонденции:** Карганов Михаил Юрьевич, e-mail: mkarganov@mail.ru

**Финансирование.** Работа частично выполнена в рамках государственного задания по теме: «Оценка физиологического баланса организма при воздействии экстремальных факторов среды». (FGFU-2025-0003).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.10.2024

Принята к печати 06.02.2025

Опубликована 27.03.2025

Karganov M.Yu.<sup>1</sup>, Alchinova I.B.<sup>1</sup>, Demorzhi M.S.<sup>1</sup>, Cherepov A.B.<sup>1</sup>, Metelkin A.A.<sup>1</sup>, Onishchenko N.A.<sup>2</sup>, Nikolskaya A.O.<sup>2</sup>, Stepanova O.I.<sup>3</sup>, Klyosov R.A.<sup>3</sup>, Semenov Kh.Kh.<sup>3</sup>, Protsenko A.N.<sup>4</sup>, Nesterenko M.W.<sup>5</sup>, Basok Yu.B.<sup>2</sup>

## Changes in the metabolism and state of blood and bone marrow cells during a course of Lactoferrin treatment at various stages of the development of type 2 diabetes mellitus

<sup>1</sup>Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltiyskaya st., Moscow, 125315, Russian Federation;

<sup>2</sup>Shumakov National Medical Research Center of transplantology and artificial organs, 1 Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation;

<sup>3</sup>«Scientific Center of Biomedical Technologies» FMBA of Russia, 1 Svetlye Gory village, Moscow Region, Krasnogorsk district, 143442, Russian Federation;

<sup>4</sup>Russian National Research Medical University, 1 Ostrovityanov St., Moscow, 117513, Russian Federation;

<sup>5</sup>LLC «Lactobio», 29 Vernadsky Avenue, Moscow, 119331, Russian Federation

**The aim** was to study time-related changes in the metabolism and state of blood and bone marrow cells during a course of Lactoferrin (Lf) treatment in various periods of the progression of type 2 diabetes mellitus (DM2).

**Methods.** Experiments were performed on 40 db/db mice with genetically modeled DM2 and 10 healthy db/+m mice (control). The db/db mice were divided into two groups: Group 1 was the control ( $n=10$ ) and Group 2 consisted of three subgroups with DM2 ( $n=30$ ). The DM2 subgroups received a 1% Lf drinking solution for up to two months during three stages of DM2 severity: stage 1, adaptation; stage 2, progressive disadaptation; and stage 3, decompensation. At these stages, blood glucose concentration, body weight, index of oxidative metabolism (IOM) in tissues, and the state of blood and bone marrow cells were assessed. Statistical analysis was performed after a preliminary use of the Shapiro–Wilks test. The significance of differences from the control was assessed with the parametric Student's  $t$  test at  $p<0.05$ .

**Results.** The use of Lf at stages 1 and 2 of DM2 stabilized the glucose concentration and body weight and contributed to normalization of their values after the Lf discontinuation. By the end of the Lf treatment at stage 3, these indices sharply decreased and the animals died. During the Lf treatment at stages 1, 2 and 3 of DM2, the IOM always decreased, but after the Lf discontinuation, the IOM increased and became higher than the background level, if Lf was administered at stages 1 and 2. Respective stress-adaptive changes were also identified for blood and bone marrow cells that developed with the participation of programmed cell death mechanisms.

**Conclusion.** The Lactoferrin course treatment used for the correction of clinical manifestations of DM2 works as a powerful adaptogen and is capable of producing an adjuvant effect on the metabolism and state of blood and bone marrow cells, but only if the adaptive reserves of the body are preserved.

**Keywords:** diabetes mellitus; Lactoferrin; redox processes; blood and bone marrow cells

**For citation:** Karganov M.Yu., Alchinova I.B., Demorzhi M.S., Cherepov A.B., Metelkin A.A., Onishchenko N.A., Nikolskaya A.O., Stepanova O.I., Klyosov R.A., Semenov Kh.Kh., Protsenko A.N., Nesterenko M.W., Basok Yu.B. Changes in the metabolism and state of blood and bone marrow cells during a course of Lactoferrin treatment at various stages of the development of type 2 diabetes mellitus. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological physiology and experimental therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(1): 14–28. (In Russian). DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.14-28

**Author's contribution:** concept and design of the study – Onishchenko N.A., Karganov M.Yu.; collection of material – Stepanova O.I., Klyosov R.A., Nikolskaya A.O.; technical preparation of the material – Alchinova I.B., Demorzhi M.S., Cherepov A.B., Metelkin A.A., Stepanova O.I., Klyosov R.A., Nikolskaya A.O., Semenov Kh.Kh., Nesterenko M.W.; preparation of illustrative material for publication – Alchinova I.B., Cherepov A.B., Stepanova O.I., Nikolskaya A.O.; writing the text – Onishchenko N.A.; editing the text – Karganov M.Yu., Basok Yu.B. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

**For correspondence:** *Mikhail Yu. Karganov*, e-mail: mkarganov@mail.ru

### Information about the authors:

Karganov M.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-5862-8090>

Alchinova I.B., <https://orcid.org/0000-0001-5294-7317>

Demorzhi M.S., <https://orcid.org/0000-0001-7190-4304>

Cherepov A.B., <https://orcid.org/0000-0002-3757-5292>

Metelkin A.A., <https://orcid.org/0000-0001-8018-4978>

Onishchenko N.A., <https://orcid.org/0000-0002-0889-8674>

Nikolskaya A.O., <https://orcid.org/0000-0001-7410-6500>

Stepanova O.I., <https://orcid.org/0009-0005-6511-3975>

Klyosov R.A., <https://orcid.org/0000-0001-8029-6486>

Protsenko A.N., <https://orcid.org/0009-0003-7468-998X>

Nesterenko M.W., <https://orcid.org/0000-0002-0504-9853>

Basok Yu.B., <https://orcid.org/0000-0003-4807-3164>

**Financing.** The work was partially carried out within the framework of the state assignment on the topic: «Assessment of the body's adaptive reactions to the action of physicochemical and environmental environmental factors» (№ FGFU-2022-0010)

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest

Received 16.10.2024

Accepted 30.01.2025

Published 27.03.2025

## Введение

Заболеваемость сахарным диабетом 2 типа (СД2) в современном мире приобрела характер пандемии [1]. Полагают, что развитие СД2, характеризующееся утратой метаболического контроля углеводного и липидного обмена, в значительной степени обусловлено накоплением эпигенетических модификаций в метаболических системах поджелудочной железы и печени [2, 3]. Именно поэтому совершенствование терапии СД2 осуществляют по трём направлениям: путём применения строгих режимов питания, физических нагрузок и эффективных медикаментозных препаратов. В настоящее время в распоряжении медицины имеется значительный арсенал антидиабетических препаратов [4], однако, большинство из них имеют существенные потребительские ограничения (побочные эффекты, недостаточная биосовместимость и безопасность) [5]. В связи с этим разработка и применение новых антидиабетических препаратов с высокой эффективностью и надёжной безопасностью остается актуальной проблемой современной фармакотерапии СД2. Недавнее признание того факта, что вещества, выделенные из натурального продукта, могут быть регуляторами метаболического баланса в организме, позволило рассматривать нутрицевтики в качестве возможных кандидатов для адьювантной терапии метаболических нарушений в организме [6]. Среди нутрицевтических белков – Лактоферрин (Лф), выделенный из молока человека и коров и представляющий собой железосвязывающий гликопротеин врождённой иммунной системы с молекулярной массой 80 КДа, особенно привлек внимание исследователей [7, 8].

Оказалось, что взаимодействие Лф с повсеместно присутствующими лактоферриновыми рецепторами в клетках позволяет проявлять железотранспортную, антиоксидантную, иммунорегуляторную, противомикробную и противоопухолевую активность [9-11], а также служить действенным регулятором метаболизма при различных патологиях. Первые доказательства регуляторной взаимосвязи между эндогенным уровнем Лф в организме и метаболическими нарушениями были получены у больных с инсулиновой резистентностью и изменённой толерантностью к глюкозе [12]. Доказательства антидиабетической активности Лф были получены также на детях с повышенной массой тела [13], у которых наступало снижение гликозилированного гемоглобина в эритроцитах, индекса массы тела и улучшение липидного состава крови. В опытах на животных [14] было установлено, что курсовое поступление в организм 1% раствора Лф в составе питьевой

воды способствовало снижению холестерина в печени и нормализации липидного состава сыворотки крови у мышей, получающих высокожировую диету. Кроме того, при курсовом введении Лф происходило снижение содержания провоспалительного фактора TNF $\alpha$  в печени и IL-6 в сыворотке крови и повышение инсулиновой сигнализации метаболических путей в печени, что способствовало облегчению трансмембранного транспорта глюкозы и сдерживанию механизмов глюконеогенеза в печени [15]. Между тем, в отдельных работах [10, 15] упоминаются исследования, в которых не было выявлено снижения уровня гликемии и липидемии при СД2 под влиянием Лф.

Представленные в литературе доказательства нормализующего воздействия Лф на углеводный и липидный обмен при СД2 позволяют, однако, лишь предположить, что Лф способствует восстановлению метаболизма не только в печени и поджелудочной железе, но и в других жизненно важных органах, таких как костный мозг, клетки которого участвуют в развитии сосудистых осложнений [16-18], иммунных дисфункций [19-21] и в усиливаемом торможении процессов восстановительной регенерации [22, 23]. Однако, данных о влиянии Лф на состояние клеток крови и костного мозга, а также состояние окислительно-восстановительных процессов в организме в процессе его курсового применения на различных этапах прогрессирующего развития СД2 мы в литературе не обнаружили. Между тем, степень тяжести метаболических нарушений в организме при СД2 может оказать существенное влияние на реализацию терапевтического потенциала Лф.

**Цель работы** – в опытах на мышах с генетической моделью СД2 изучить влияние курсового применения Лф в составе питьевого раствора на динамику метаболизма и состояния клеток крови и костного мозга в зависимости от степени тяжести нарушения окислительного метаболизма в тканях организма на этапах прогрессирующего развития СД2.

## Методика

Работа выполнена на мутантных мышах линии C57BL/KsJYLeprdb/+, которые были предоставлены ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России. Все экспериментальные животные содержались по 5 особей в клетке в условиях свободного доступа к воде и пище на рационном питании (без диет), соответствующем нормативам ГОСТа. Животные соответствовали категории конвенциональных.

В качестве рациона получали стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабора-

торных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 518492001 Р.5. Водопроводная очищенная вода всем животным поступала в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды при температуре воздуха 18-22°C, относительной влажности 60-70% и искусственном освещении с циклом 12/12. При проведении исследований руководствовались: ГОСТ 33216-2014.

Проведение настоящего экспериментального исследования было рассмотрено и одобрено локальным Этическим комитетом ФГБНУ «НИИОПП» (протоколы № 2 от 04.04.2023 и № 3 от 07.05.2024).

**Характеристика экспериментальных животных.** Влияние курсового применения Лактоферрина (Лф) на этапах прогрессирующего развития СД2 изучали на мутантных гомозиготных мышах C57BL/KsJYLeprdb/+(B/Ks-Leprdb/+) – (db/db), которые несут рецессивный ген – leptin receptor – Leprdb – (db) (8 группа сцепления, 4 хромосома). Ген db в гомозиготном состоянии вызывает прогрессирующее развитие СД, что обусловлено снижением рецептор-опосредованной чувствительности клеток организма к эндогенному инсулину. Развивающийся СД сходен с СД2 и характеризуется деградацией клеток в островках поджелудочной железы, но без дефицита выработки инсулина на ранних сроках. Общее количество мутантных мышей – диабетиков линии B/Ks-Leprdb/Leprdb (db/db) обоих полов, использованных в эксперименте, составило 40 особей ( $n=40$ ). Мыши с генетической моделью СД2 были разбиты на 2 группы: 1-я группа служила контролем, в которой животные с СД2 не получали терапию Лф в течение всего эксперимента ( $n=10$ ); 2-я группа – опытная ( $n=30$ ), которая состояла из 3-х подгрупп, в каждой из которых мыши с СД2 получали 1% питьевой раствор Лф в течение 2-х мес, но в разные периоды прогрессирующего нарушения метаболизма (см. раздел «Результаты»). В 1-й подгруппе Лф включали в рацион мышей в возрасте 1,0-1,5 мес; во 2-й подгруппе Лф включали в питьевой раствор в возрасте 2,5-4,0 мес; в 3-й подгруппе Лф включали в питьевую воду мышей в возрасте 5,0-6,0 мес. В качестве второго контроля использовали фенотипически здоровых гетерозиготных мышей той же линии – B/Ks-Leprdb/+ – (db/+m) ( $n=10$ ). Общее количество мышей, использованных в эксперименте, составило 50 особей. В работе использовали Лф (коммерческое название Биферрин), изготовленный из коровьего молока по ТУ 10.89.19-001-49293427-2018 в ООО «НПК Растительные Ресурсы», Санкт-Петербург, РФ.

**Методы, использованные для оценки тяжести состояния животных.** У контрольных и опытных мы-

шей в течение 8,0-10,5 мес в динамике изучали изменения ряда показателей, которые отражают степень тяжести клинического состояния животного при СД2. Измеряли массу тела, количество выпитой воды в сутки, содержание глюкозы в крови, а также оценивали состояние окислительно-восстановительных процессов (ОВП) в тканях организма. Содержание глюкозы определяли в свежей венозной (капиллярной) крови фотометрическим методом на приборе Accu-Chek Active (Швейцария). Вес животных определяли еженедельно в одно и то же время с помощью весов Mettler BD202 (Швейцария). Динамическая оценка состояния ОВП производилась неинвазивно с помощью аппарата лазерной доплеровской флуометрии – «Лазма-СТ» [24]. Этот аппарат позволяет измерять микроциркуляцию крови и лимфы в тканях хвоста, определять в этих тканях уровень активности митохондриальных коферментов – НАДН, ФАД и на основании полученных результатов автоматически рассчитывать показатель окислительного метаболизма (ПОМ) [24]. Определение в динамике в процессе жизни животных тканевого уровня микроциркуляции, активности митохондриальных коферментов, ПОМ, веса и содержания глюкозы в крови позволило выявить 3 периода (этапа) развивающихся нарушений метаболизма в организме мутантных мышей с СД2: 1,0-2,0 мес после рождения – период адаптивных изменений – (I); 2,0-4,5 мес – период прогрессирующей дезадаптации – (II) и 5,0-6,5 мес и до гибели животных – период декомпенсации метаболизма – (III) (см. раздел «Результаты»). Именно на этих сроках мыши опытной группы получали Лф.

Для выполнения гистологических исследований материал в виде небольших кусочков печени использовали для изготовления срезов тканей толщиной 6-7 мкм на микротоме Leitz –1208 (ФРГ). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и анализировали на микроскопе Olympus CX31 (Япония). В контрольной и опытной группах на различных этапах развития СД2 проводили исследование изменений в состоянии клеток крови и костного мозга.

**Методы исследования состояния клеток крови и костного мозга.** Для исследования клеток крови смешанную кровь, полученную при декапитации, забирали в пробирки с  $K_3$ ЭДТА (Трикалиевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты). Оценку гематологических показателей – (RBC  $10^{12}/л$  – эритроциты, HGB, г/л – гемоглобин, HCT, % – гематокрит, MCV, фемтолитр – средний объем эритроцита, MCH, пикограмм – среднее содержание гемоглобина в эритроците, MCHC, г/л – средняя концентрация гемоглобина в эритроците, RDW-CV, % – ширина распределения эритроци-

тов, RDW-SD, % – ширина распределения эритроцитов (стандартное отклонение); PLT  $10^9$ /л – тромбоциты, PDW, % – относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму, PCT, % – тромбокрит, MPV, фемтолитр – средний объём тромбоцита; WBC  $10^9$ /л – лейкоциты, Neu, % – нейтрофилы, Lymph, % – лимфоциты, Mono, % – моноциты, Eosi, % – эозинофилы, Baso, % – базофилы) проводили на автоматическом гематологическом анализаторе DYMIN D VET DF50 (Китай) в соответствии с рекомендациями производителя. Данные представляли как средний результат из трёх промеров.

Клетки костного мозга для исследования выделяли из бедренной и большой берцовой костей мышей с использованием стандартного протокола [25]. После тщательного очищения этих костей от мышц и связок отсекали эпифизы и кости помещали в 0,5 мл стандартные пластиковые центрифужные пробирки с заранее проколотым с помощью иглы (G18-21) дном. Эти пробирки помещали внутрь пластиковых центрифужных пробирок объемом 1,5 мл и центрифугировали 15 с при 10 000 g. В результате выделенные клетки костного мозга оказывались в большой пробирке.

Для оценки выраженности апоптоза в клетках костного мозга использовали детекцию фосфатидилсерина на внешней мембране клеток с помощью меченого аннексина V. Количество аннексин+ клеток оценивали, используя набор для определения апоптотических клеток с помощью аннексина V-AF 488 (Lutiprobe, Россия) по стандартному протоколу с последующей проточной цитометрией [26]. Для определения нарушения целостности клеточной мембраны (апоптоз) использовали йодистый пропидий (Lutiprobe, Россия). Его добавляли в пробы перед измерением на проточном цитометре до концентрации 0,5-1,0 мкг/мл.

Свежеприготовленные образцы анализировали на проточном цитометре BD FACSCalibur (Becton Dickinson, США), оснащённым аргоновым лазером (488 нм). Эмиссию флуоресценции (AF488, FITS) регистрировали в канале FL1 (515-545 нм) и в диапазоне йодистого пропидия FL2 (620 нм). Для каждого образца накапливалось от 15000 до 25000 событий. Сбор данных проводили с помощью программы CELLQuest (Becton Dickinson, США). Данные полученные в пилотном исследовании обрабатывали в программе FlowJo. Результаты анализировали с учетом рекомендаций, изложенных L.C. Crowley и соавт. [26], с установкой таргетного гейта.

*Статистическая обработка результатов.* Численные значения ПОМ, глюкозы и массы тела в 3-х исследуемых периодах развития СД2 (до 8,0-8,5 мес или гибели животных) подвергали статистической обработке с предварительным использованием теста Шапиро–Уилкса на небольшом количестве выборок ( $n > 5$ ) для доказательства нормального распределения данных, характеризующих метаболизм в отдельные периоды. Достоверность различия показателей в сравниваемые периоды оценивали с помощью  $t$  – критерия Стьюдента (стандартный программный пакет Microsoft Office Excel 2021). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Для оптимизации корректирующего воздействия Лф на углеводный обмен в организме мы считали важным, прежде всего, определить на каком этапе прогрессирующего развития СД2 у мышей применение этого препарата способно оказать наиболее выраженный терапевтический эффект.

### *1. Стадии (этапы) прогрессирующего развития СД2.*

Выполнение комплексного динамического исследования изменений содержания глюкозы в крови, массы тела и микроциркуляторно-тканевых показателей окислительного метаболизма (НАДН, ФАД и ПОМ) начиная с 1,0 – 1,5 мес и до 10 – 10,5 мес жизни мышей позволило выявить 3 временных периода прогрессирующего нарушения измеряемых показателей. Было установлено (**рис. 1**), что на сроке жизни мышей 1,0 – 1,5 мес на фоне нарастающей гипергликемии и массы тела повышалась амплитуда активности НАДН и ФАД и снижались значения ПОМ; однако, при сравнении с контролем (мышы db/+m) (**рис. 1**) выявленные изменения показателей ОВП были недостоверны. Этот срок развития СД2 был признан I стадией СД2 – стадией адаптации.

Формирование клинических признаков дезадаптации обнаруживается на сроке 2,0 – 2,5 мес (значительное повышение веса, уровня гликемии и развитие полиурии) и их прогрессирующее продолжается до 4,0 – 4,5 мес. В этом временном периоде достоверно прогрессирует тяжесть нарушения показателей ОВП – ПОМ (**рис. 1**) и начинается снижение веса, но ещё не проявляются сосудистые осложнения. Период 2,0 – 4,5 мес был признан II стадией СД2 и назван стадией прогрессирующей дезадаптации. Начиная с возраста 5,0 – 6,5 мес у мышей на фоне углубляющегося нарушения клинических показателей и показателей, характеризующих состояние ОВП в тканях организма, у 30% животных развивались осложнения (мацерация кожи, чаще всего в области холки, которая становилась обширной незаживающей раной вплоть до их гибели на 7 – 10 мес).

Этот период (с 5 – 6,5 мес и до гибели животных) был признан III – терминальной стадией развития СД2 или стадией декомпенсации адаптационных механизмов с развитием глубокой тканевой гипоксии.

**2. Влияние ЛФ на показатели окислительного метаболизма, углеводного обмена и гистологического состояния печени на различных стадиях СД2.** На установленных временных сроках формирования отдельных этапов прогрессирующего развития СД2 нами в 3-х подгруппах мышей опытной группы проводилась курсовая терапия 1% водным раствором Лактоферрина (ЛФ), свободно поступающего в организм в течение 60 дней (2 мес) в виде питьевого раствора. Контролем служили мыши с СД2 без терапии ЛФ на всём сроке наблюдения (рис. 1). На рис. 2 представлена динамика концентрации глюкозы в крови (рис. 2, а/а), массы тела (рис. 2, б/б) и значения амплитуд показателя окислительного метаболизма (ПОМ) в тканях (рис. 2, в/в) у мышей с СД2 при доставке ЛФ в организм на разных этапах прогрессирования тяжести их состояния, а так же в течение 2–3 мес после окончания применения ЛФ. Из рис. 2 видно, что в течение всего срока введения ЛФ у животных с I и II стадией развития СД2 значения показателей глюкозы в крови и массы тела (рис. 2, а/а, б/б) существенно не про-

грессировали во времени, оставаясь близкими к тому уровню, на котором была начата терапия ЛФ. Введение ЛФ на I и II стадии способствовало длительному сохранению высокого уровня глюкозы в крови. ЛФ на III стадии развития СД2 также первоначально тормозил прогрессирующие изменения этих показателей, но к концу 1 мес терапии показатели глюкозы и массы тела резко снижались, а в скором времени (до окончания срока применения ЛФ) животные погибали. У мышей, получавших терапию ЛФ на I и II стадии СД2, значения показателей глюкозы в крови после прекращения поступления ЛФ в организм достоверно снижались и к 3 мес наблюдения стабилизировались на уровне 11,7 и 12,5 ммоль/л (рис. 2, а/а, б/б). При исследовании ПОМ в течение всего срока потребления ЛФ (рис. 2, в/в) было установлено, что начиная с 7 и до 21 дня поступления ЛФ в организм мышей на исходно разных стадиях развития СД2 (на I, II и III стадии) в тканях организма наступает резкое угнетение ОВП. Это выражается в снижении ПОМ, которое было отчётливым для мышей во всех подгруппах: в подгруппе 1 – ПОМ (в безразмерных единицах) снизился с 8,36 до 5,6; в подгруппе 2 – с 7,24 до 4,87; в подгруппе 3 – с 5,27 до 3,2. При дальнейшем поступлении ЛФ в организм мышей с СД2 в 1 и 2 подгруппах развивалось по-

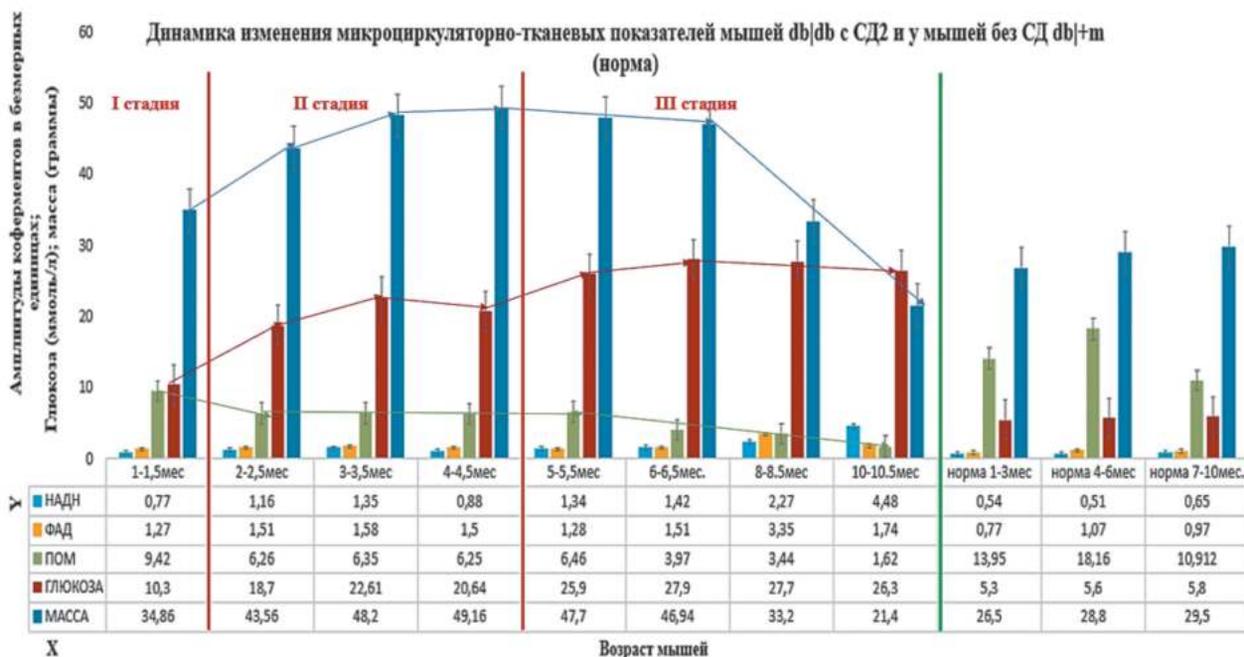
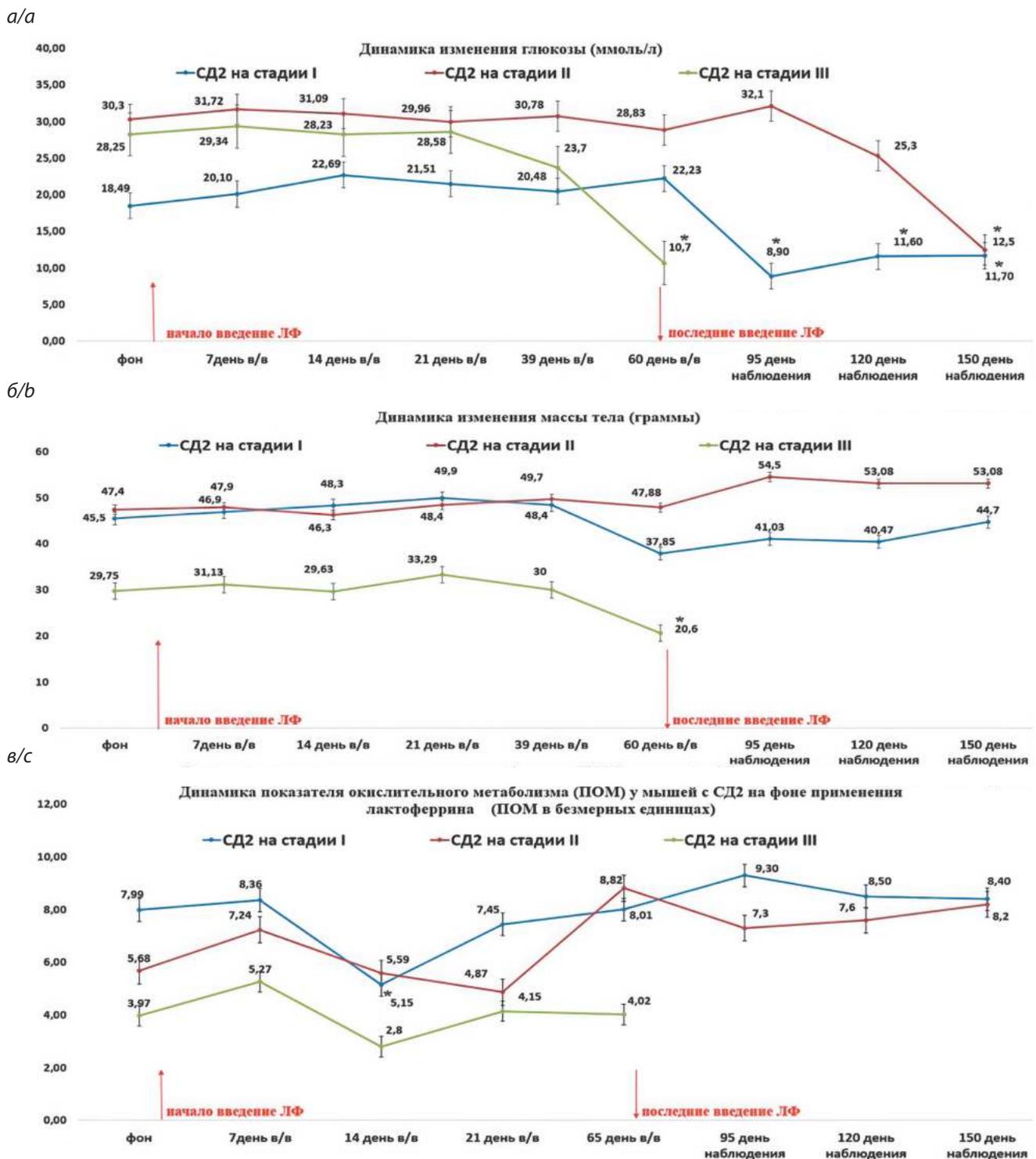


Рис. 1. Изменения глюкозы в крови, массы тела и микроциркуляторно-тканевых показателей у мышей db/db с СД2 и у мышей без СД db/+m (норма).

Fig. 1. Dynamics of changes in blood glucose, body weight and microcirculatory-tissue parameters in db/db mice with DM2 and in mice without diabetes db/+m (normal).



**Рис. 2.** Изменения метаболических показателей на фоне введения Лактоферрина на разных стадиях развития СД2 и после его отмены. а/а – глюкоза; б/б – масса тела; в/с – ПОМ (показатель окислительного метаболизма). \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходным уровнем.  
**Fig. 2.** Dynamics of changes in metabolic parameters during the administration of Lactoferrin at different stages of the development of T2DM and after its withdrawal. а/а – glucose; б/б – body weight; в/с – IOM (index of oxidative metabolism). \* –  $p < 0.05$  compared to the initial level.

степенное повышение ПОМ, который после отмены поступления Лф в организм стабилизировался и в течение последующих 3-х мес наблюдения поддерживался в подгруппах 1 и 2 на более высоком уровне, чем перед началом терапии Лф (**рис. 2**). ПОМ в подгруппе 1 исходно составлял 7,99, а через 3 мес после курсового применения Лф -8,4; в подгруппе 2 – ПОМ исходно составлял 5,68, а после терапии Лф – 8,2; в подгруппе 3 – ПОМ исходно был на низком уровне и составил 4,57, к концу применения ЛФ ПОМ составил 4,02, однако, уже к концу второго месяца применения Лф животные в подгруппе 3 – быстро погибали.

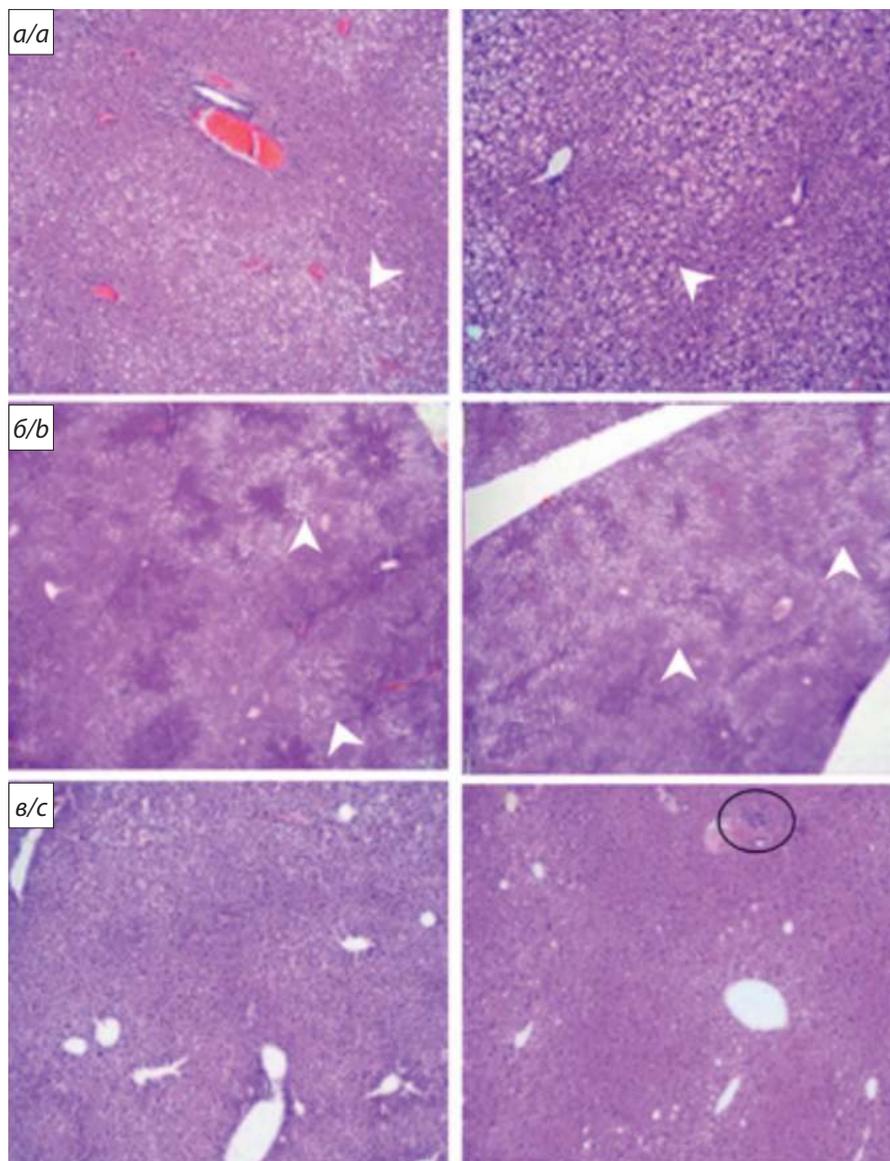
Таким образом, проведенное нами исследование динамики содержания глюкозы в крови, массы тела и состояния ОВП в тканях организма мышей в процессе применения Лф на разных этапах прогрессирующего развития СД2 позволило установить, что Лф, независимо от тяжести состояния животных, во всех подгруппах первоначально снижал интенсивность ОВП в тканях организма т.е. действовал как стресс-адаптирующий фактор.

Лф проявлял в организме мышей свойства адаптогена, т.к. на фоне снижения интенсивности ОВП в подгруппах 1 и 2 за счёт сохранившихся энергетических резервов и перестройки метаболизма в тканях тормозилось дальнейшее прогрессирование гликемии, и стабилизировалась масса тела. В подгруппе 3, однако, к концу срока применения Лф животные погибали, т.к. энергетические резервы у этих животных, находящихся на стадии декомпенсации, уже были истощены, а под воздействием Лф они быстро достигали критического уровня. Для подтверждения реализации стресс-адаптивных свойств Лф при применении его у животных с СД2 нами были изучены гистологические препараты ткани печени, активно участвующей в дисрегуляции углеводного и жирового обмена при СД2. На **рис. 3** представлена гистологическая картина ткани печени мышей на разных стадиях прогрессирующего развития СД2 без и на 22-й день курсового применения Лф. Из **рис. 3** видно, что на всех стадиях развития СД2 без применения Лф печень характеризуется наличием выраженной жировой дистрофии. На I стадии СД2, наряду с жировыми включениями в гепатоцитах, можно выявить некоторое количество двуядерных клеток. На II стадии СД2 в печени выявляются участки с гибелью большого количества печёночных клеток и замещением пустот каплями жира; двуядерные гепатоциты практически отсутствуют. В III терминальной стадии СД2 отмечается фокальный некроз гепатоцитов в периферической зоне печёночной доли и признаки пролиферации купферовских кле-

ток. В паренхиме отмечаются также единичные мелкие лимфогистиоцитарные узелки и выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация в периферической зоне, которые являются признаком воспалительного процесса в печени.

К 22 дню непрерывного применения Лф на I, II и III стадиях СД2 признаки повреждения ткани печени становились более выраженными. При введении Лф на I и II стадиях СД2 в печени выявлены обширные зоны дистрофии гепатоцитов с накоплением в них жира в виде многочисленных жировых капель разного размера и тенденцией их к слиянию в крупные жировые капли, ядра большинства гепатоцитов смещены к периферии. Выявлены участки с гибелью большого количества печёночных клеток и замещением пустот каплями жира. Двуядерных гепатоцитов выявлялось меньше, чем у животных, не получавших Лф. При введении Лф на III стадии СД2 дополнительно выявляется картина белковой (зернистой) дистрофии гепатоцитов, участки с фокальной жировой дистрофией и некротическими изменениями отдельных печёночных клеток с признаками кариорексиса. В периферической зоне печёночной доли отмечается также фокальный некроз гепатоцитов с признаками пролиферации купферовских клеток и слабая лимфогистиоцитарная инфильтрация. Таким образом, результаты исследования гистологических препаратов печени в период курсового применения Лф в совокупности с результатами исследования тканевого метаболизма позволяют признать, что Лф, развивая свою активность в организме, действует как стресс – адаптирующий фактор, который, снижая эффективность окислительных процессов в тканях, способствует усилению деструктивных процессов в них. Поскольку развитие осложнений при СД2, их тяжесть, а также обратимость при использовании адекватной терапии в значительной степени определяется состоянием клеток системы крови и костного мозга, поддерживающих адекватный уровень окислительно-восстановительных процессов в тканях, оказывающих иммунорегуляторное воздействие и участвующих в реализации регенераторных процессов, нами было изучено изменение, в этой системе – в период применения Лф и в течение 2–3 мес после его отмены.

**3. Влияние ЛФ на состояние клеток крови на разных стадиях СД2.** Результаты исследования состояния клеток крови при воздействии Лф представлены в **таблице** и на **рис 4**. В **таблице** приведены результаты исследования количественных характеристик, а также функциональных и физических свойств эритроцитов и тромбоцитов на фоне применения Лф в разные периоды развития СД2 и после его отмены.



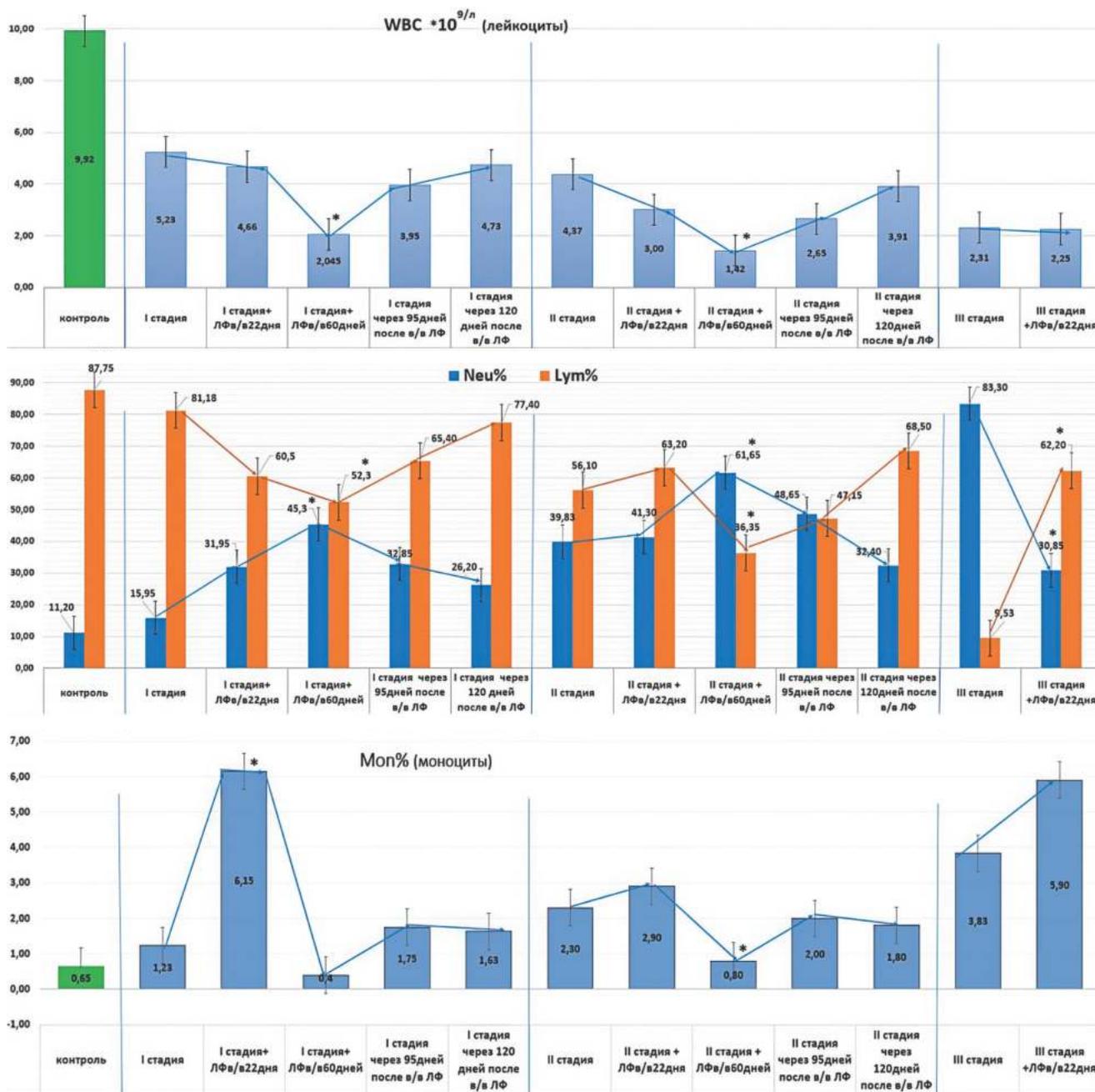
**Рис. 3.** Гистологическое состояние печени на трех этапах развития СД2 без и на фоне применения Лактоферрина (Лф). Окраска гематоксилин – эозин, увеличение 10×10: *a/a* – I стадия СД2; *a1/a1* – I стадия СД2 + Лф; *б/б* – II стадия СД2; *б1/б1* – II стадия СД2 + Лф; *в/с* – III стадия СД2; *в1/с1* – III стадия СД2 + Лф. Белые стрелки – участки ткани с жировой дистрофией, черный круг – лимфогистиоцитарная инфильтрация.

**Fig. 3.** Histological state of the liver at three stages of the development of DM2 without and with the use of Lactoferrin (Lf). Hematoxylin-eosin staining, magnification 10×10: *a/a* – Stage I DM2; *a1/a1* – stage I DM2 + LF; *б/б* – stage II DM2; *б1/б1* – stage II DM2 + LF; *в/с* – stage III DM2; *в1/с1* – stage III DM2 + LF.

Результаты, представленные в **таблице**, не позволили нам, однако, выявить чёткую закономерность адаптирующего воздействия Лф на все исследуемые параметры эритроцитов и тромбоцитов. Возможно, это обусловлено сохраняющимся повышенным диурезом и развивающимся изменением физических характеристик клеток крови, которые искажают истинные значения измеряемых показателей. Между тем, при исследовании общего количества лейкоцитов и процентного содержания отдельных популяций клеток в их составе (**рис. 4**) удастся в течение всего срока применения Лф на разных стадиях СД2 выявить влияние адаптирующего механизма действия Лф на лейкоциты крови. Так, в 1 и 2 подгруппах примене-

ние Лф на I и II стадии СД2 способствовало дальнейшему снижению лейкопоза и усилению системной воспалительной реакции (по соотношению нейтрофилов и лимфоцитов), но после отмены Лф начиналось постепенное восстановление измеряемых показателей; однако, в 3 подгруппе при введении Лф на III стадии – отмена Лф сопровождалась ускоренной гибелью животных из-за полного истощения энергетических и регуляторных ресурсов в клетках организма при развитии стресс – адаптирующего эффекта Лф.

**4. Влияние ЛФ на состояние клеток костного мозга на разных стадиях СД2.** По современным представлениям адаптивная перестройка метаболизма



**Рис. 4.** Результаты динамического исследования состояния лейкоцитов крови на фоне применения Лф (через 22 и 60 дней) и после его отмены (95 и 120 день наблюдения).

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходным уровнем.

**Fig. 4.** Results of a dynamic study of the state of blood leukocytes during the use of Lf (after 22 and 60 days) and after its withdrawal (95 and 120 days of observation).

\* –  $p < 0,05$  compared to the initial level.

в тканях при различных повреждающих воздействиях начинается с активации в их клетках отдельных механизмов программируемой гибели, которые пре-

вращают клетки в секретомы, продуцирующие многочисленные паракринные факторы выживания [27]. Именно поэтому нами была проведена оценка цито-

Результаты динамического исследования состояния клеток крови (эритроцитов и тромбоцитов) у мышей линий db/+m (контроль) и db/db (модель СД2) после применения Лф (22 дня и 60 дней) на разных стадиях развития СД2 и после отмены Лф (через 95 и 120 дней от начала применения Лф).

The results of a dynamic study of the state of blood cells (erythrocytes and platelets) in db/+m (control) and db/db mice (DM2 model) after the use of Lf (22 days and 60 days) at different stages of the development of T2DM and after withdrawal of Lf (after 95 and 120 days from the start of Lf use).

Показатели	db/+m	db/db (СД2)											
		I стадия+Лф (период адаптации)					II стадия+Лф (период прогрессирующей дезадаптации)					III стадия+Лф (период декомпенсации)	
		День					День						
		исх	22	60	95	120	Исх	22	60	95	120	Исх	22 Дня
RBC 10 <sup>12</sup> /л	8,68	7,5	8,64	8,0	8,145	8,22	7,73	8,18	7,92	7,17	7,5	8,78	7,72
HGB г/л	157,5	132,25	154,5	156	155,5	156	147,3	158	148,5	136	144	167,7	144,5
HCT%	40,75	39,15	43,55	39,4	44,2	42,2	40,8	43,4	41,95	37,8	41,3	46,25	42,4
MCV (fl)	46,95	52,15	50,45	49,2	54,3	51,4	52,8	53,1	52,95	52,8	53,1	52,67	54,9
MCH (pg)	18,1	17,6	17,85	19,5	19,1	18,1	19,07	19,4	18,8	18,95	19,1	19,07	18,7
MCHC г/л	386	337,25	354,5	395,5	352,5	348,5	361	365	354	359,5	362,1	362,3	340,5
RDW-CV%	15,35	18,43	19,45	14	16,8	15,6	17,53	15,2	16,95	16,05	15,9	18,5	16,95
PLT 10 <sup>9</sup> /л	881	898	820	803	935,5	890,5	753	728	896,5	911,5	880	977	877,0
MPV (fl)	6,7	6,85	7,1	6,2	6,15	6,9	6,33	6,05	5,85	5,9	6,1	7,1	6,2
PDW%	6,5	6,23	6,8	5,7	6,2	6,3	7,2	5,7	5,2	6,2	6,6	9,13	6,7
PCT%	0,59	0,61	0,58	0,498	0,57	0,6	0,48	0,44	0,52	0,54	0,5	0,69	0,54

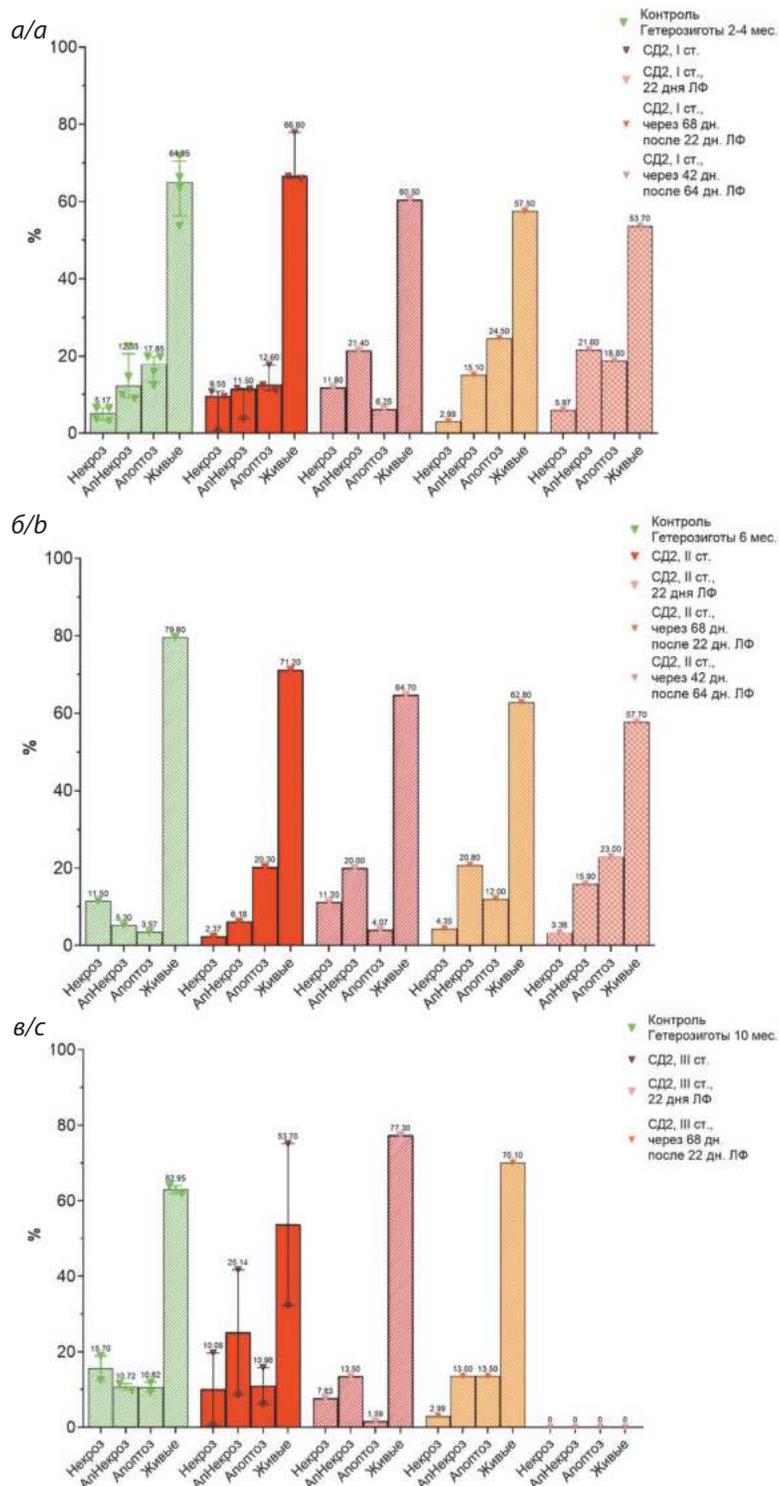
Примечание. fl – в фемтолитрах; pg – в пикограммах.

Note. Designations: fl – in femtoliters; pg – in pictograms.

метрических характеристик программируемой гибели клеток костного мозга (ККМ) под влиянием курсового применения Лф на разных стадиях прогрессирующего развития СД2. Общее количество клеток костного мозга у мышей с терминальной стадией снижалось на порядок и более (0,03 — 0,12×10<sup>7</sup> клеток на 1 бедренную кость) по сравнению с контрольными животными (гетерозиготами) того же возраста (6-10 мес), у которых оно было ~1,3×10<sup>7</sup> клеток на 1 бедренную кость. Значимых различий в количестве клеток костного мозга на начальной и выраженной стадиях по сравнению с контрольными (гетерозиготными) животными того же возраста (2 мес и 4-6 мес соответственно) мы не обнаружили. Количество клеток у этих животных колебалось в диапазоне от 1,0×10<sup>7</sup> до 1,6×10<sup>7</sup> на 1 бедренную кость. Из рис. 5 видно, что Лф при непрерывном применении в течение 22 дней способствовал снижению процентного содержания живых клеток на I и II стадиях развития СД2 и повышению процентного содержания клеток в состоянии апонекроза.

Однако, после отмены Лф (через 22 дня применения) на фоне продолжающегося снижения живых клеток к 68 суткам происходило отчётливое повышение процентного содержания клеток в состоянии апонекроза

по сравнению с контролем. У животных с III стадией СД2 (стадия декомпенсации) применение Лф в течение 22 дней резко повышало количество живых клеток в костном мозге с 53,7% до 77,3%, но снижало количество клеток как в состоянии апонекроза с 25,14% до 13,5%, так и апоптоза с 10,96% до 1,59% (рис. 5, в/с). Отмена Лф в течение 68 дней после 22 дней его применения приводила у этих животных к снижению живых клеток до 70,1% и повышению доли апоптотических клеток до 13,5%. Мы полагаем, что результаты оценки цитометрических показателей клеток костного мозга на фоне применения Лф позволяют выявить степень выраженности сохранившихся в организме адаптационных резервов на разных стадиях СД2 по суммарному процентному содержанию в костном мозге повреждённых клеток: на I стадии эти клетки составили 39,5%, на II стадии – 35,3%, а на III – 22,6%. После отмены Лф количество повреждённых клеток на I стадии повысилось до 42,5%, на II стадии – до 37,9%, а на III стадии – до 29,9%. Таким образом, курсовое введение Лф в организм на всех этапах развития СД2 выявляет не только его стресс-адаптирующие свойства, но и выявляет адаптивные резервы организма, уровень которых предопределяет выраженность терапевтического эффекта ЛФ на разных стадиях развития СД2.



**Рис. 5.** Состав клеток костного мозга до и после применения ЛФ на разных стадиях развития СД 2: а/а – I стадия, б/б – II стадия, в/в – III стадия.  
**Fig. 5.** Composition of bone marrow cells before and after the use of LF at different stages of development of type 2 diabetes: а/а – stage I, б/б – stage II, в/в – stage III.

### Обсуждение

Приступая к изучению терапевтических возможностей Лф, при СД2 мы обратили внимание на его благоприятные эффекты не только при СД2 [11, 13], но и при различных других патологиях — респираторных заболеваниях, сепсисе, анемии, неонатальных некротизирующих колитах и др. [7, 15]. Наряду с преимущественно позитивной оценкой влияния Лф на метаболизм глюкозы и липидов при СД2 (снижение гликемии и липидемии), встречаются работы, в которых регуляторное воздействие Лф на эти показатели при СД2 не подтвердилось [15, 28]. Это позволило нам предположить, что Лф оказывает на организм неспецифическое регуляторное воздействие и что выявленные различия в действии Лф при СД2 могут быть обусловлены применением его разных доз, способов и сроков введения в организм, а также различной степенью тяжести (стадией) заболевания, на которой применялся Лф. Для определения влияния степени тяжести метаболических нарушений в организме при СД2 на реализацию терапевтических эффектов Лф нами было выполнено настоящее исследование. Стадии прогрессирующего развития СД2 были выявлены нами путём регистрации гликемии, веса и ПОМ в опытах на мышах db/db без применения Лф и представлены на **рис. 1**. Из **рис. 2 а/а, б/б** видно, что динамика уровня гликемии и массы тела при введении Лф на I и II стадии СД2 стабилизировалась, т.е. не претерпела существенных изменений в течение всего срока введения Лф, но прекращение поступления Лф в организм способствовало отчётливому снижению уровня гликемии и стабилизации веса животных в течение 3 последующих месяцев. Введение Лф на III стадии СД2 сначала тормозило нарастание уровня гликемии и массы тела, но затем показатель гликемии резко снижался, постепенно снижалась масса тела и животные погибали уже в конце периода применения Лф. При оценке ПОМ (**рис. 2 в/в**) мы отметили, что именно в период непрерывного и длительного поступления Лф в организм наступало снижение этого показателя, особенно выраженное в I и II подгруппах. После отмены Лф ПОМ в I и II подгруппах постепенно восстанавливался и становился даже выше исходного уровня. Между тем, в III подгруппе животных, где ПОМ был уже исходно на низком уровне, этот показатель под воздействием Лф продолжал снижаться, способствуя ранней гибели животных. Аналогичная закономерность была выявлена нами при изучении влияния Лф в I, II и III подгруппах на состояние клеток крови и костного мозга. В крови в I и II подгруппах отмечено нарастающее торможение лейкопоэза и активация его после отмены Лф (**см. табл., рис. 4**); в костном мозге — нарастающее сниже-

ние количества живых клеток после 22 дней применения Лф и увеличение количества повреждённых (апоптотических) клеток (**рис. 5**) после отмены Лф. В III подгруппе также активизировались механизмы срочной адаптации, но они были не эффективны и животные погибали.

Полученные результаты курсового воздействия Лф на организм в терапевтической дозе [15] не явились для нас неожиданными, т.к. они полностью укладываются в современные представления о клеточных механизмах формирования срочной защиты органов. Эти механизмы действуют в рамках активизации эволюционно выработанного неспецифического адаптационного синдрома клеточных систем [29], в котором активную роль играют механизмы программируемой гибели клеток [27], в том числе, как мы показали, и клеток костного мозга. Показано, что именно активация этого синдрома обеспечивает клеточный гомеостаз, но на сниженном уровне (снижение ПОМ), и поддерживается энергетически за счёт активации гликолиза [30]. Очевидно, на этапе применения Лф именно за счёт усиления гликолиза в клетках организма, уровень гликемии и был стабилизирован. Дополнительным подтверждением активации механизмов программируемой гибели клеток при формировании срочной защиты органов при воздействии медикаментозных препаратов могут служить многочисленные работы последних лет об активации в них процессов клеточной аутофагии [31]. Результаты гистологического исследования печени также подтверждают стресс-адаптирующее воздействие Лф на этапе его курсового применения, т.к. Лф усиливал в печени деструктивные процессы — способствовал усилению жировой дистрофии и усиливал в ней воспалительный процесс, который, как полагают, является ведущим фактором развития инсулинорезистентности [15]. Проведенное нами исследование подтверждает эффективность использования Лф для коррекции гликемии и ОВП при СД2, которая развивается в организме вслед за эффективной реализацией адаптационного синдрома. Вместе с тем, проведенное исследование указывает на целесообразность применения Лф только у пациентов с ещё сохранившимся уровнем адаптационных резервов в организме, т.к. даже у таких пациентов длительное курсовое применение Лф может оказать неблагоприятное воздействие на клинический статус в период развития адаптационного синдрома.

### Выводы:

1. Лф в виде 1% питьевого раствора в период курсового применения на всех стадиях развития СД2 действует на клеточном и тканевом уровне как мощный адаптоген, что проявляется выраженным снижением

ем уровня окислительно-восстановительных процессов в тканях, усугублением деструктивных процессов в печени и торможением процессов гемопоэза с участием механизмов программируемой гибели клеток.

2. На ранних стадиях развития СД2 (стадия адаптации и прогрессирующей дезадаптации) Лф стабилизирует значения показателей гликемии и веса животных; прекращение поступления Лф в организм спонтанно снижает уровень гликемии и стабилизирует вес животных; на поздней стадии развития СД2 (стадия декомпенсации) Лф уже в конце курсового применения способствует резкому повышению и быстрому снижению гликемии, ведёт к прогрессирующему снижению веса и гибели животных.

3. Курсовое применение Лф на всех стадиях развития СД2 оказывает стресс-адаптивное воздействие на клетки лейкоцитарной формулы крови: развивается дальнейшее снижение общего количества лейкоцитов, повышение процентного содержания нейтрофилов и снижение процентного содержания лимфоцитов; после отмены Лф, использованного на ранних стадиях СД2, процесс кроветворения начинает медленно восстанавливаться.

4. На всех стадиях СД2 Лф оказывает стресс-адаптивное воздействие на состояние клеток костного мозга путём активации в них регуляторных механизмов программируемой гибели с развитием апонекроза и апоптоза: на ранних стадиях применение Лф и его отмена способствуют снижению процентного содержания живых клеток и выраженному повышению клеток в состоянии апонекроза и апоптоза; на поздней стадии СД2 применение Лф и его отмена характеризуются более низким процентным содержанием в костном мозге клеток в состоянии программируемой гибели (некроз, апонекроз и апоптоз), чем при использовании и отмене Лф на ранних стадиях СД2.

5. Курсовое применение Лф для коррекции клинических проявлений СД2 может оказаться целесообразным на ранних (ауторегулируемых) стадиях развития болезни (I и II стадии) и должно осуществляться под контролем информационных лабораторно-клинических показателей (уровень гликемии, лейкоцитарная формула крови и др.).

### Литература

(п.п. 1–23; 25–28; 31 см. References)

24. Степанова О.И., Клёсов Р.А., Семёнов Х.Х., Помыткин И.А., Онищенко Н.А., Каркищенко В.Н. Способ неинвазивного изучения тканевых нарушений при сахарном диабете 2 типа у мышей db/db с помощью лазерной доплеровской флоуметрии *Патологическая физиология экспериментальная терапия* 2023; 67(2): 118–29. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.02.118-129>

29. Браун А.Д., Мозженок Т.П. *Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы*. Л.: Изд. дом «Наука», 1988.

30. Онищенко Н.А. Цитогенетическая рекапитуляция, индуцированная медикаментозными препаратами как универсальная фаза формирования срочной защиты органов от повреждения при трансплантации. *Патологическая физиология экспериментальная терапия*. 2016; 60(4): 148–53.

### References

- Viigimaa M., Sachinidis M., Toumpourleka M., Koutsampasopoulos K., Alliksoo S., Titma T. Macrovascular complications of type 2 diabetes mellitus. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2020; 18(2): 110–6. <https://doi.org/10.2174/157016117666190405165151>
- Hossan T., Kundu S., Alam S.S., Nagarajan S. Epigenetic modifications associated with the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2019; 19(6): 775–86. <https://doi.org/10.2174/18715303119666190301145545>
- Alamri B.N., Bahabri A., Aldereihim A.A., Alabdijabbar M., Alsubaie M.M., Alnaqeb D., et al. Hyperglycemia effect on red cells indices. *Eur. Rev. Med. Pharmacol Sci.* 2019; 23: 2139–50. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_201903\\_17259](https://doi.org/10.26355/eurrev_201903_17259)
- Malandrino N., Wu W.C., Taveira T.H., Whitlatch H.B., Smith R.J. Association between red blood cell distribution width and macrovascular and microvascular complications in diabetes. *Diabetologia*. 2012; 55: 226–35.
- Henning R.J. Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Future Cardiol.* 2018; 14(6): 491–509. <https://doi.org/10.2217/fca-2018-0045>
- Hosseini M.S., Rostami Z., Saadat A., Saadatmand S.M., Naemi E. Anemia and microvascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nephrourol Mon.* 2014; 6(4): e19976. <https://doi.org/10.5812/numonthly.19976>
- Alexander D.B., Iigo M., Yamauchi K., Suzui M., Tsuda H. Lactoferrin: an alternative view of its role in human biological fluids. *Biochem Cell Biol.* 2012; 90(3): 279–306. <https://doi.org/10.1139/o2012-013>
- Legrand D. Lactoferrin, a key molecule in immune and inflammatory processes. *Biochem Cell Biol.* 2012; 90(3): 252–68. <https://doi.org/10.1139/o11-056>
- Kanwar J.R., Roy K., Patel Y., Zhou S.F., Singh M.R., Singh D., et al. Multifunctional iron bound lactoferrin and nanomedicinal approaches to enhance its bioactive functions *Molecules*. 2015; 20(6): 9703–31. <https://doi.org/10.3390/molecules20069703>
- García-Montoya I.A., Cendón T.S., Arévalo-Gallegos S., Rascón-Cruz Q. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1820(3): 226–36. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.06.018>
- Levay P.F., Viljoen M. Lactoferrin: a general review *Haematologica*. 1995; 80(3): 252–67. PMID: 7672721
- Moreno-Navarrete J.M., Ortega F.J., Bassols J., Ricart W., Fernández-Real J.M. 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: 4036–44. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0215>
- Mohamed W.A., Schaalman M.F. Antidiabetic efficacy of lactoferrin in type 2 diabetic pediatrics; controlling impact on PPAR- $\gamma$ , SIRT-1, and TLR4 downstream signaling pathway. *Diabetol Metab Syndr.* 2018; 4(10): 89. <https://doi.org/10.1186/s13098-018-0390-x>

14. Ling C.J., Xu J.Y., Li Y.H., Tong X., Yang H.H., Yang J., et al. Lactoferrin promotes bile acid metabolism and reduces hepatic cholesterol deposition by inhibiting the farnesoid X receptor (FXR)-mediated enterohepatic axis. *Food Funct.* 2019; 10(11): 7299-7307. <https://doi.org/10.1039/c9fo01616c>
15. Ianiro G., Niro A., Rosa L., Valenti P., Musci G., Cutone A. To boost or to reset: the role of lactoferrin in energy metabolism. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24: 15925. <https://doi.org/10.3390/ijms242115925>
16. Kanwar J.R., Roy K., Patel Y., Zhou S.F., Singh M.R., Singh D., et al. Multifunctional iron bound lactoferrin and nanomedical approaches to enhance its bioactive functions. *Molecules.* 2015; 20(6): 9703-31. <https://doi.org/10.3390/molecules20069703>
17. Wang X., Yue L., Dang L., Yang J., Chen Z., Wang X., et al. Role of sialylated glycans on bovine lactoferrin against influenza virus. *Glycoconj. J.* 2021; 38(6): 689-696. <https://doi.org/10.1007/s10719-021-10029-5>
18. Derosa G., Angelo A., Maffioli P. Change of some oxidative stress parameters after supplementation with whey protein isolate in patients with type 2 diabetes. *Nutrition.* 2020; 73: 110700. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.110700>
19. Moreno-Navarrete J.M., Ortega F.J., Bassols J., Castro A., Ricart W., Fernandez-Real J.M. Association of circulating lactoferrin concentration and 2 nonsynonymous LTF gene polymorphisms with dyslipidemia in men depends on glucose-tolerance status. *Clin. Chem.* 2008; 54(2): 301-9. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.095943>
20. Moreno-Navarrete J.M., Ortega F.J., Bassols J., Ricart W., Fernandez-Real J.M. 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): 4036-44. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0215>
21. Mohamed W.A., Schaalan M.F. Antidiabetic efficacy of lactoferrin in type 2 diabetic pediatric; controlling impact on PPAR- $\gamma$ , SIRT-1 and TLR4 downstream signaling pathway. *Diabetol Metab Syndr.* 2018; 10: 89. <https://doi.org/10.1186/s13098-018-0390-x>
22. Ling C.J., Xu J.Y., Li Y.H., Tong X., Yang H.H., Yang J., et al. Lactoferrin promotes bile acid metabolism and reduces hepatic cholesterol deposition by inhibiting the farnesoid X receptor (FXR)-mediated enterohepatic axis. *Food Funct.* 2019; 10(11): 7299-307. <https://doi.org/10.1039/c9fo01616c>
23. Du Y., Li D., Chen J., Li Y.H., Zhang Z., Hidayat Kh., et al. Lactoferrin improves hepatic insulin resistance and pancreatic dysfunction in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice. *Nutrition Research.* 2022; 103: 47-58. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2022.03.011>
24. Stepanova O.I., Klesov R.A., Semenov Kh.Kh., Pomytkin I.A., Onishchenko N.A., Karkischenko V.N. A method for noninvasive studying tissue disorders in type 2 diabetes mellitus in db/db mice using laser Doppler flowmetry. *Patologicheskaya Fiziolgiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2023; 67(2): 118-29. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.02.118-129> (in Russian)
25. Amend S.R., Valkenburg K.C., Pienta K.J. Murine hind limb long bone dissection and bone marrow isolation. *J Vis Exp.* 2016; 14(110): 53936. <https://doi.org/10.3791/53936>
26. Crowley L.C., Marfell B.J., Scott A.P., Waterhouse N.J. Quantitation of apoptosis and necrosis by annexin V binding, propidium iodide uptake, and flow cytometry. *Cold Spring Harb Protoc.* 2016; 2016(11). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot087288>
27. Beer L., Mildner M., Gyongyosi M., Ankersmit H.J. Peripheral blood mononuclear cell secretome for tissue repair. *Apoptosis.* 2016; 21: 1336-53. <https://doi.org/10.1007/s10495-016-1292-8>
28. Ling C.J., Min Q.Q., Yang J.R., Zang Z., Yang H.H., Xu J.Y., et al. Lactoferrin alleviates the progression of atherosclerosis in ApoE(-/-) mice fed with high-fat/cholesterol diet through cholesterol homeostasis. *J. Med Food.* 2019; 22(10): 1-9. <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.4389>
29. Braun A.D., Mozejnok T.P. *Nonspecific adaptive syndrome of cellular system. [Nespetsificheskii adaptatsionnyi sindrom kletochnoi sistemy].* Leningrad: Publ. House, «Nauka»; 1988. (in Russian)
30. Onishchenko N.A. Cytogenetic recapitulation, induced by medical preparations, as the universal stage of formation of urgent protection against damage at organ transplantation. *Patologicheskaya Fiziolgiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2016; 60(4): 148-53. (in Russian)
31. Lin C.W., Chen Y.S., Lin C.C., Chen Y.J., Lee P.H., Kuo P.L., et al. Amiodarone as an autophagy promoter reduces liver injury and enhances liver regeneration and survival in mice after partial hepatectomy. *Sci Rep.* 2015; 5: 15807. <https://doi.org/10.1038/srep15807>

#### Сведения об авторах:

**Карганов Михаил Юрьевич**, доктор биол. наук, проф., гл. науч. сотр., лаб. физико-химической и экологической патофизиологии ФГБНУ «НИИОПП»;

**Алчинова Ирина Борисовна**, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. физико-химической и экологической патофизиологии ФГБНУ «НИИОПП»;

**Деморжи Марина Сергеевна**, науч. сотр., лаб. физико-химической и экологической патофизиологии ФГБНУ «НИИОПП»;

**Черепов Антон Борисович**, науч. сотр., лаб. физико-химической и экологической патофизиологии ФГБНУ «НИИОПП»;

**Метёлкин Аркадий Андреевич**, мл. науч. сотр., отд. молекулярной и клеточной патофизиологии ФГБНУ «НИИОПП»;

**Онищенко Нина Андреевна**, доктор мед. наук, проф., гл. специалист отд. подготовки научных и медицинских кадров, ФГБУ «НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России;

**Никольская Алла Олеговна**, канд. биол. наук, лаборант-исследователь, отд. биомедицинских технологий и тканевой инженерии, ФГБУ «НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России;

**Степанова Ольга Ивановна**, канд. биол. наук, зав. лаб. № 5 ФГБУН НЦБМТ ФМБА России;

**Клёсов Роман Алексеевич**, науч. сотр., лаб. № 5 ФГБУН НЦБМТ ФМБА России;

**Семёнов Хызыр Хыйсаевич**, канд. биол. наук, зав. лаб. № 10 ФГБУН НЦБМТ ФМБА России;

**Проценко Алексей Николаевич**, канд. мед. наук, доцент, каф. дерматовенерологии им. акад. Ю.К. Скрипкина ИКМ ФГАОУ ВО «РНМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;

**Нестеренко Михаил Владимирович**, доктор биол. наук, науч. руководитель проекта ООО «Лактобио»;

**Басок Юлия Борисовна**, доктор мед. наук, зав. отд. биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России.