

Выявление нейтрофилов низкой плотности и особенностей формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек у больных с диабетической нейроостеоартропатией (стопой Шарко)

И.В. Друк¹, Д.Г. Новиков¹, А.Н. Золотов¹, Н.А. Кириченко¹, Е.А. Кирх¹, А.В. Индутный¹, В.В. Ходус², Н.Л. Самусева¹, Е.А. Сорокина², Н.А. Ромашова²

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 644099, Омская область, г. Омск, ул. Ленина, д. 12

²БУЗОО «Клиническая медико-санитарная часть № 9», Россия, 644018, г. Омск, ул. 5-я Кордная, д. 73

Реферат. Введение. Нейроостеоартропатия Шарко является тяжёлым осложнением сахарного диабета. Несмотря на хорошо описанную клиническую картину, иммунологические особенности нейроостеоартропатии Шарко остаются недостаточно изученными, что ограничивает эффективность терапевтических стратегий, в том числе направленных на подавление остеокластов. Важным направлением исследований является изучение аномальной активации нейтрофилов и их способности к образованию внеклеточных ловушек. **Цель.** Изучить особенности формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек лейкоцитами, выделенными из венозной крови у пациентов с сахарным диабетом 1-го и 2-го типа, осложнённым синдромом диабетической стопы без и с нейроостеоартропатией Шарко. **Материалы и методы.** Обследованы три группы: «Контроль» (здоровые волонтеры, n=12), «Пациенты с синдромом диабетической стопы» (n=7), «Стопа Шарко» (n=8). Клетки выделяли градиентным центрифугированием на фиколл-верографине, образцы клеток из фракций мононуклеаров и гранулоцитов исследовали методом световой (окраска по Романовскому-Гимзе) и люминесцентной микроскопии (нейтрофильные внеклеточные ловушки окрашивали пропидия йодидом). Оценивали ex vivo спонтанный и индуцированный нетоз. **Результаты и их обсуждение.** В мононуклеарной фракции вне стимуляции в обеих группах пациентов выявлены облаковидные и нитевидные внеклеточные ловушки, отсутствующие в группе «Контроль», что свидетельствует о спонтанном нетозе. Количество облаковидных нейтрофильных внеклеточных ловушек было выше в группе «Стопа Шарко» (p=0,0175), а нитевидных – значимо выше в обеих группах по сравнению с контролем (p=0,0379 и p=0,0006 соответственно), с преобладанием доли нитевидных форм ловушек у пациентов группы «Стопа Шарко». В гранулоцитарной фракции в группе «Пациенты с синдромом диабетической стопы» отмечено увеличение нитевидных ловушек (p=0,0141). В группе «Стопа Шарко» наблюдалась выраженная межиндивидуальная вариабельность. В группе «Стопа Шарко» в фракции гранулоцитов индуцированный нетоз характеризовался преобладанием нитевидных нейтрофильных внеклеточных ловушек (p=0,0093). После воздействия антигенного стимулятора – пробиотика в обеих группах пациентов отмечалась низкая способность нейтрофилов нормальной плотности к формированию внеклеточных ловушек, что указывает на ослабление их противомикробной активности, реализуемой при помощи этого механизма. **Выводы.** В крови пациентов с сахарным диабетом выявлены нейтрофилы нормальной и низкой плотности. У пациентов с синдромом диабетической стопы и с нейроостеоартропатией Шарко нейтрофилы низкой плотности и, возможно, моноциты, склонны к спонтанному формированию внеклеточных ловушек, которое более выражено у пациентов из группы «Стопа Шарко». Индуцированный нетоз характеризовался преимущественным формированием нитевидных внеклеточных ловушек и был особенно интенсивным в группе «Стопа Шарко». Нейтрофилы нормальной плотности в группах пациентов характеризуются сниженной способностью к индуцированному нетозу в ответ на антигенную стимуляцию пробиотиком.

Ключевые слова: сахарный диабет, синдром диабетической стопы, диабетическая нейроостеоартропатия, стопа Шарко, нейтрофилы низкой плотности, нейтрофильные внеклеточные ловушки.

Для цитирования: Друк И.В., Новиков Д.Г., Золотов А.Н., [и др.]. Выявление нейтрофилов низкой плотности и особенностей формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек у больных с диабетической нейроостеоартропатией (стопой Шарко) // Вестник современной клинической медицины. – 2025. – Т. 18, вып. 6. – С.54–63. DOI: 10.20969/VSKM.2025.18(6).54-63.

Identification of low-density neutrophils and features of forming neutrophil extracellular traps in patients with diabetic osteoarthropathy (Charcot foot)

Inna V. Druk¹, Dmitry G. Novikov¹, Alexander N. Zolotov¹, Nikolay A. Kirichenko¹, Elizaveta A. Kirkh¹, Anton V. Indutny¹, Vladimir V. Khodus², Natalia L. Samuseva¹, Elena A. Sorokina², Natalia A. Romashova²

¹Omsk State Medical University, 12 Lenin str., 644099 Omsk, Russian Federation

²Clinical Medical Unit No. 9, 73 5th Kordnaya str. 73, 644018 Omsk, Russian Federation

Abstract. Introduction. Charcot neuroarthropathy is a severe complication of diabetes mellitus. Although the clinical picture of Charcot neuroarthropathy is well-defined, the underlying immunological mechanisms have not been fully elucidated, thereby constraining the efficacy of therapeutic approaches, particularly those aimed at osteoclast inhibition. An important research trend is the studies of abnormal neutrophil activation and their ability to form extracellular traps.

Aim. To study the features of forming neutrophil extracellular traps by leukocytes isolated from venous blood in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus complicated by diabetic foot syndrome without and Charcot neuroarthropathy.

Materials and Methods. Three groups were examined: "Control" (healthy volunteers, $n=12$), "Patients with diabetic foot syndrome" ($n=7$), "Charcot foot" ($n=8$). Cells were isolated by gradient centrifugation on Ficoll-Verografin. Cell samples from the mononuclear and granulocyte fractions were examined using light microscopy (Romanowsky-Giemsa stain) and luminescence microscopy (neutrophil extracellular traps were stained with propidium iodide). Spontaneous and induced NETosis was assessed ex vivo. **Results and Discussion.** In the mononuclear fraction without stimulation, cloud-shaped and filamentous extracellular traps that had been absent in the "Control" group, were detected in both groups of patients, indicating spontaneous NETosis. Number of cloud-shaped neutrophil extracellular traps was higher in the "Charcot foot" group ($p=0.0175$), while filamentous traps were significantly more frequent in both patient groups compared to the control ($p=0.0379$ and $p=0.0006$, respectively), with a predominance of filamentous forms in the "Charcot foot" group. In the granulocyte fraction, an increase in filamentous traps was noted in the "Patients with diabetic foot syndrome" group ($p=0.0141$). The "Charcot foot" group showed pronounced interindividual variability. Induced NETosis in the "Charcot foot" group in the granulocyte fraction was characterized by a predominance of filamentous neutrophil extracellular traps ($p=0.0093$). After exposure to an antigenic stimulator (probiotic), both patient groups showed a low ability of normal-density neutrophils to form extracellular traps, indicating a weakening of their antimicrobial activity implemented via this mechanism. **Conclusions.** Neutrophils of normal and low density were identified in the blood of patients with diabetes mellitus. In patients with diabetic foot syndrome and Charcot neuroarthropathy, low-density neutrophils and, possibly, monocytes are prone to spontaneously forming extracellular traps, which is more pronounced in the "Charcot foot" group. Induced NETosis was characterized by predominantly forming filamentous extracellular traps and especially intense in the "Charcot foot" group. Normal-density neutrophils in the patient groups are characterized by a reduced ability for induced NETosis in response to antigenic stimulation with a probiotic.

Keywords: diabetes mellitus, diabetic foot syndrome, diabetic neuroarthropathy, Charcot foot, low-density neutrophils, neutrophil extracellular traps.

For citation: Druk, I.V.; Novikov, D.G.; Zolotov, A.N.; et al. Identification of low-density neutrophils and features of forming neutrophil extracellular traps in patients with diabetic osteoarthropathy (Charcot foot). The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2025, 18 (6), 54-63. DOI: 10.20969/VSKM.2025.18(6).54-63.

Введение. Нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) представляют собой сети внеклеточных волокон, состоящие из антимикробных белков и деконденсированной ДНК хроматина, высвобождаемой активированными нейтрофилами. Нетоз – гибель нейтрофильных клеток, сопровождающаяся формированием НВЛ, которая отличается от некроза или апоптоза. Помимо нейтрализации патогенов, нетоз играет важную роль в развитии сахарного диабета (СД) и связанных с ним осложнений [1]. По мере изучения роли НВЛ в патологии, становится все более очевидным, что они играют ключевую роль в патогенезе заболеваний, вызванных воспалением, включая аутоиммунные расстройства, прогрессирование рака и тромботические осложнения [2].

Действительно, последние исследования показывают, что НВЛ действуют как обоюдоострый меч. С одной стороны, НВЛ могут уничтожать патогенные микроорганизмы и подавлять воспаление, вызванное инфекцией. С другой стороны, чрезмерная выработка внеклеточных ловушек или нарушение их выведения могут оказывать серьезное влияние на повреждение тканей и быть причиной прогрессирования многих воспалительных заболеваний, ассоциированных с низкоинтенсивным воспалением, таких как сахарный диабет 1-го (СД1) или 2-го типа (СД2), а также осложнений, вызванных диабетом [1]. Установлено, что гипергликемия может вызывать высвобождение циркулирующих биомаркеров НВЛ. Например, в исследовании Menegazzo L. и соавт. показано, что в сравнении с контрольной группой, у пациентов с СД2 уровень IL-6 и TNF α в сыворотке крови выше, что связано с присутствием

повышенного уровня двухцепочечной ДНК в сыворотке крови [3]. Дисфункция нейтрофилов снижает эффективность заживления ран, успешность регенерации тканей и иммунный надзор за патогенными микроорганизмами [4]. У пациентов с СД содержание продуктов, способствующих высвобождению НВЛ, значительно повышено в крови, и эти данные подтверждают связь нетоза с осложнениями диабета, включая диабетическую ретинопатию, атеросклероз и синдром диабетической стопы [1].

Нейроостеоартропатия Шарко (НОА) – это осложнение периферической невропатии, которое поражает кости, суставы и мягкие ткани стопы и голеностопного сустава [5]. НОА характеризуется воспалением на ранней стадии, которое прогрессирует с различной степенью разрушения костей, подвывихом, смещением и деформацией. НОА является тяжёлым осложнением СД с потенциально катастрофическими последствиями. По сравнению с пациентами с синдромом диабетической стопы, но без деформаций, риск образования язв у пациентов со сформировавшейся деформацией в семь раз выше [6].

В двух крупных исследованиях, проведённых на основе регистров в Скандинавии, сообщалось о распространённости синдрома диабетической стопы в 0,56–0,9 % при уровне заболеваемости 6,4–9,5 на 10 000 человек с СД [7, 8, 9]. Несмотря на значительное влияние на заболеваемость, частота и распространённость НОА относительно неизвестны, при этом предполагаемая распространённость НОА составляет 0,56% у людей с сахарным диабетом, увеличиваясь до 10-12% у лиц, находящихся в специализированных учреждениях [5, 10]. Пожиз-

ненный риск развития диабетической язвы стопы составляет от 19% до 34%. После первичного заживления часто случаются рецидивы; примерно у 40% пациентов рецидив наступает в течение 1 года после заживления язвы, почти у 60% – в течение 3 лет и у 65% – в течение 5 лет. Инфекция развивается в 50-60% язв и является основной патологией, приводящей к повреждению диабетической стопы. Примерно в 20% случаев инфекции диабетической стопы средней или тяжелой степени приводят к ампутации нижних конечностей. Частота развития остеомиелита составляет около 20% от числа язв диабетической стопы [10]. Недавнее исследование показало, что 5-летняя смертность при синдроме диабетической стопы, язвах стоп, малых и больших ампутациях составляет 29,0%, 30,5%, 46,2% и 56,6% соответственно [11]. Синдром диабетической стопы является одной из значимых причин инвалидизации во всем мире и существенно снижает качество жизни пациентов.

Несмотря на тот факт, что НОА признана тяжелым осложнением сахарного диабета, её патогенетические механизмы продолжают оставаться предметом дискуссий. Современное понимание патогенеза болезни строится на ряде ключевых концепций. Нейротравматическая модель объясняет её развитие сочетанием двигательной нейропатии, ведущей к деформации стопы и аномальному распределению давления, и сенсорного дефицита, маскирующего повторяющиеся микротравмы, что в итоге вызывает разрушение кости [12]. Нейроваскулярная гипотеза акцентирует роль автономной нейропатии, провоцирующей усиленный приток крови к костной ткани и, как следствие, активацию остеокластов и резорбцию кости [12]. Существует теория хронического низкоинтенсивного воспаления, связывающая деструкцию кости с гиперактивацией провоспалительных сигнальных путей, таких как NF- κ B [13]. Поскольку патогенез НОА до конца не изучен, активно изучаются факторы риска развития этой патологии [14].

Тем не менее, эффективность терапевтических стратегий, нацеленных на ключевые звенья патогенеза (например, ингибирование остеокластов), остается ограниченной. Это свидетельствует об участии дополнительных патогенетических механизмов, значение которых необходимо оценить. В частности, в контексте теории хронического воспаления крайне малоизученным остается вклад дисфункции врожденного иммунитета, а именно – аномальной активации нейтрофилов и процесса формирования ими внеклеточных ловушек.

Цель исследования. Изучить особенности формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) лейкоцитами, выделенными из венозной крови у пациентов с сахарным диабетом 1-го и 2-го типа, осложненным синдромом диабетической стопы (СДС) без и с нейроостеоартропатией Шарко.

Материалы и методы.

Исследование, выполняемое в рамках научного проекта № 25-25-20206 (грант РНФ) конкурс № 100 на тему «Особенности формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек при синдроме диабетической

стопы у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типов и возможности их определения для оценки прогноза течения заболевания (Омская область)» единогласно одобрено членами Этического комитета ФГБОУ ВО Омского государственного медицинского университета (выписка из протокола №8 от 25.04.2025). В исследование поперечного среза в соответствии с общими критериями включения/невключения (критерии включения: возраст пациентов обоего пола старше 18 лет, ранее верифицированный сахарный диабет 1 (СД1) или 2 типа (СД2), подписанное информированное согласие на участие в исследовании; критерии неключения: наличие или подозрение на наличие злокачественных новообразований, критическая ишемия стоп, тромбоз нижних конечностей, уровень HbA1c > 10%, наличие ВИЧ-инфекции, туберкулеза, отсутствие информированного согласия) вошли 15 пациентов (10 женщин, 5 мужчин; медиана возраста – 67,0 [62,0; 75,0]; стаж диабета – 19,0 [17,0; 25,0]), поступивших на стационарное лечение в центр критической ишемии конечностей и диабетической стопы БУЗОО МСЧ 9 (г. Омск) в период с апреля по август 2025 г. Пациенты были распределены в 2 группы: группа пациентов с синдромом диабетической стопы с язвенным дефектом стоп: группа «СДС» (n=7; мужчин – 4; СД2 – 7); группа пациентов с нейроостеоартропатией – группа «Шарко» (n=8; мужчин – 1; СД2 – 6; СД1 – 2). В группу «Контроль» вошли здоровые волонтеры (n=12; мужчин – 5; медиана возраста – 59,0 [51,0; 69,0]); критерии включения: отсутствие соматических заболеваний; критерии неключения: те же, что у пациентов с СД. Текущая терапия была представлена, согласно клиническим рекомендациям по ведению пациентов с сахарным диабетом 2 типа, пероральными сахароснижающими препаратами (групп бигуаниды, производные сульфонилмочевины, ингибиторы дипептидилпептидазы-4, ингибиторы натрийзависимого переносчика глюкозы 2 типа) и инсулинотерапией по принципу базис-болюс.

Исследование клеточного состава изолированных фракций гранулоцитов и мононуклеаров, полученных при центрифугировании клеток крови на фиколл-вероградиновом градиенте.

С целью исследования особенностей клеточного состава в фракции мононуклеаров и фракции гранулоцитов после выделения с применением фиколл-вероградинового градиента ($r_1=1,077$; $r_2=1,105$ г/мл), клетки дважды отмывали в физиологическом растворе. Доводили концентрацию клеток, полученных из обоих слоев до 5000 клеток на 1 мкл. Окрашивали по Романовскому-Гимзе. Микроскопию проводили с использованием иммерсионного объектива в световом микроскопе при увеличении $\times 1000$. При контроле выделения клеток в слое гранулоцитов обнаруживались только нейтрофильные лейкоциты.

Исследование способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек.

Исследовали особенности формирования внеклеточных ловушек клетками, находящимися в слое мононуклеарных клеток и в слое гранулоцитов, вне

действия какого-либо стимулятора (спонтанный нетоз) и после 30 мин инкубации клеток с антигенным стимулятором, представляющим собой смесь бактерий (*Lactobacillus* (L.) *reuteri*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* и *Bifidobacterium longum*) в составе коммерческого пробиотика.

Окрашивали клетки и внеклеточные ловушки в пробах, полученных из фракции гранулоцитов и фракции мононуклеарных клеток, интеркалирующим красителем – пропидия йодидом, изготавливали препарат «раздавленная капля». Результаты визуализировали при комбинировании светового потока, испускаемого при возбуждении светом ртутной лампы фотолюминесценции пропидия йодида (со светофильтром возбуждения, пропускающим свет длиной волны 450-480 нм, и запирающим эмиссионным фильтром, обеспечивающим световой поток с длиной волны выше 515 нм) с проходящим световым потоком от галогеновой лампы. В микропрепаратах, полученных из фракции гранулоцитов рассчитывали процентное отношение облаковидных НВЛ и нитевидных НВЛ относительно всех визуализируемых в препарате люминесцентно-позитивных (облаковидных НВЛ, нитевидных НВЛ, клеток раннего нетоза, активированных нейтрофилов) и люминесцентно-негативных объектов (интактных нейтрофилов) (рис. 1). Аналогичным образом оценивались объекты, содержащиеся в фракции мононуклеарных клеток, однако обнаруженные объекты нитевидной и облаковидной формы именовались внеклеточными ловушками (ВЛ), поскольку используемая методика исследования не позволяет достоверно установить источник их происхождения (мононуклеары или нейтрофилы низкой плотности).

Статистический анализ.

Исзуемые показатели во всех сравниваемых группах имели распределение, отличающееся от нормального, поэтому для анализа данных использовали непараметрические методы. Результаты представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1–Q3). Статистическую значимость различий между группами «Контроль», «СДС» и

«Шарко» оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса с последующим апостериорным сравнением (post hoc) для определения значимости различий между конкретными группами. Обработку данных проводили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 23. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

При исследовании клеток, выделенных из слоя мононуклеарных клеток и окрашенных по Романовскому-Гимзе, была обнаружена значительная доля нейтрофилов (от 15 до 30%) на фоне мононуклеаров (рис. 2). Согласно литературным данным, в моноцитарном кольце после градиентного центрифугирования сохраняются так называемые нейтрофилы низкой плотности (low-density neutrophils, LDN), которые, как описано, обладают повышенной способностью к продукции провоспалительных цитокинов [15], активному образованию внеклеточных ловушек [16, 17], что в конечном итоге приводит к нарушению регуляции воспалительного ответа. У здоровых добровольцев доля LDN не превышала 1%, что согласуется с литературными данными, согласно которым количество LDN от общего числа нейтрофилов составляет менее 2% [18, 19]. Известно, что процент LDN увеличивается при различных патологиях, включая злокачественные новообразования, системную красную волчанку и пародонтит [15, 19, 20].

В нативных микропрепаратах из слоя мононуклеарных клеток, не подвергавшихся активации – воздействию стимулятора, полученных в группах «СДС» и «Шарко» наблюдались облаковидные и нитевидные внеклеточные ловушки, свидетельствующие о спонтанном нетозе (рис. 3); в группе «Контроль» такие структуры отсутствовали. Доля облаковидных внеклеточных ловушек в группе «Шарко» была статистически значимо выше, чем в контрольной группе ($p_{\text{Kruskal-Wallis}} = 0,0085$; post hoc: для «Шарко» $p = 0,0175$). В группе «СДС» отмечалась лишь тенденция к увеличению этого показателя, что, вероятно, объясняется отсутствием внеклеточных ловушек в мононуклеарной фракции у части паци-

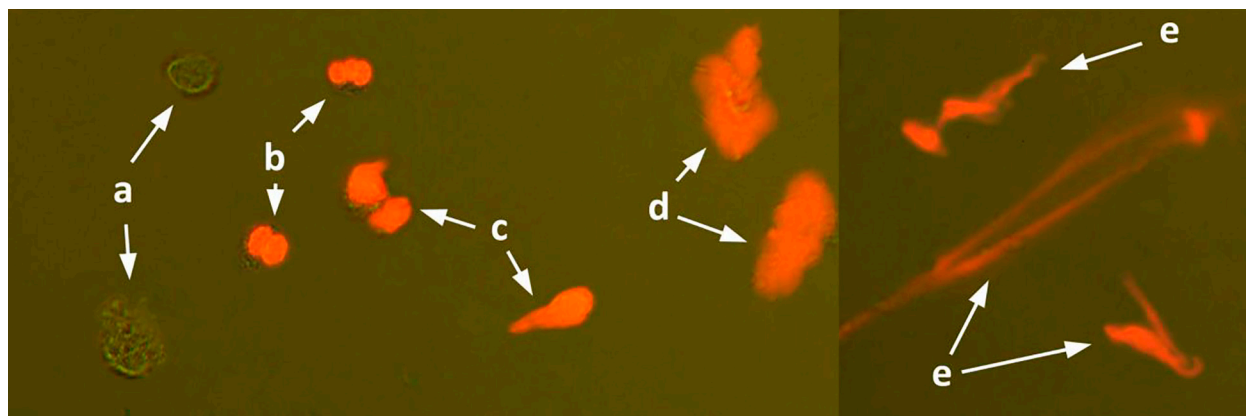


Рисунок 1. Примеры визуализируемых внеклеточных ловушек и клеток разной степени активации в препаратах полученных из слоя гранулоцитов и мононуклеаров: интактные нейтрофилы (a); активированные нейтрофилы (b), клетки раннего нетоза (c); облаковидные внеклеточные ловушки (d); нитевидные внеклеточные ловушки (e). Люминесцентная микроскопия, x600.

Figure 1. Examples of visualized extracellular traps and cells at different stages of activation in preparations obtained from the granulocyte and mononuclear cell layers: intact neutrophils (a); activated neutrophils (b); early netosis cells (c); cloud-shaped extracellular traps (d); filamentous extracellular traps (e). Luminescence microscopy, x600.

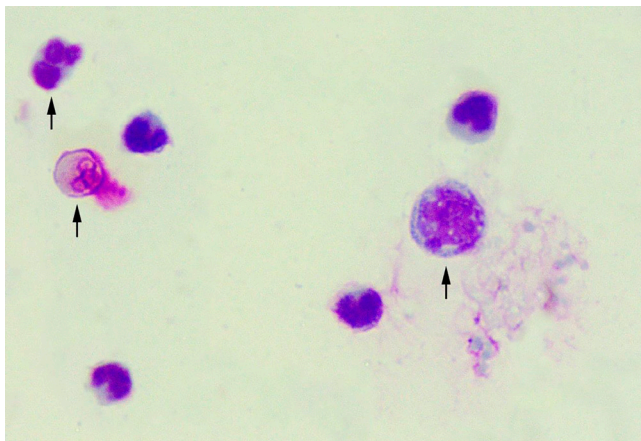
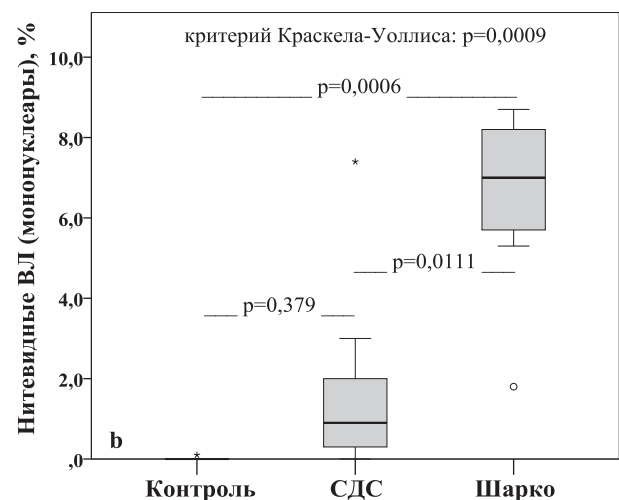
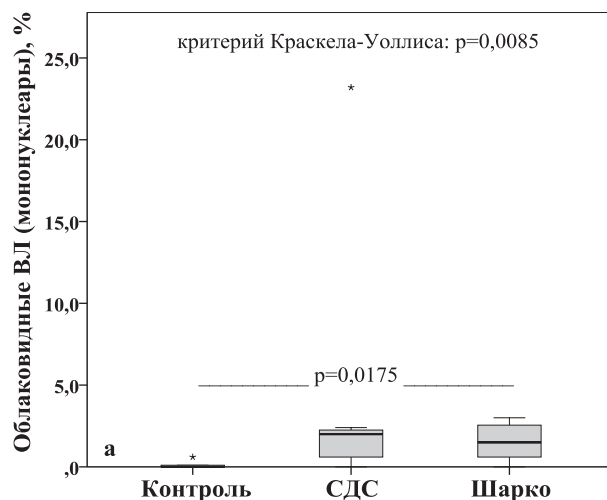


Рисунок 2. Нейтрофилы низкой плотности (LDN) во фракции мононуклеарных клеток у пациента с сахарным диабетом 2-го типа (СД2), осложненным синдромом диабетической стопы (СДС) и нейроостеоартропатией Шарко.
Окраска по Романовскому-Гимзе, ув. х600.
Figure 2. Low-density neutrophils (LDNs) in the mononuclear cell fraction from a patient with type 2 diabetes mellitus (T2DM) complicated by diabetic foot syndrome (DFS) and Charcot neuro-osteoarthropathy (CNO). Romanowsky-Giemsa stain, x600.

Фракция мононуклеарных клеток.



Фракция гранулоцитов

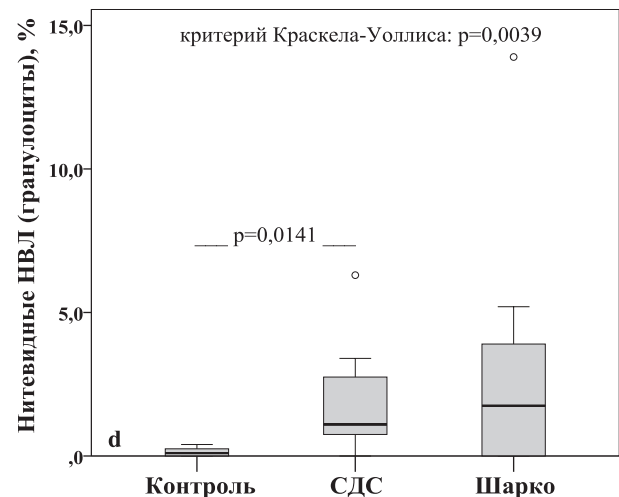
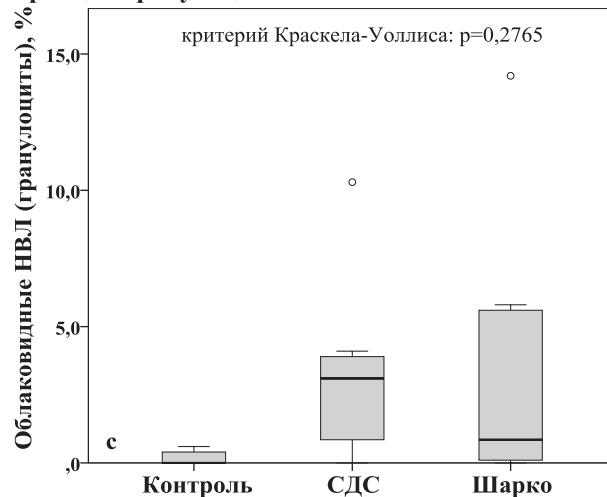


Рисунок 3. Процентное отношение облаковидных и нитевидных внеклеточных ловушек, визуализируемых в нативном препарате клеток, взятых на люминесцентную микроскопию из фракции мононуклеарных клеток и фракции гранулоцитов после градиентного разделения венозной крови здоровых волонтеров из группы «Контроль», пациентов с синдромом диабетической стопы (группа «СДС») и пациентов с нейроостеоартропатией Шарко (группа «Шарко»), Ме (Q1; Q3).

Figure 3. Percentage of cloud-shaped and filamentous extracellular traps visualized in the native cell preparation taken for fluorescence microscopy from the mononuclear cell fraction and the granulocyte fraction after gradient separation of venous blood from healthy volunteers in the "Control" group, patients with diabetic foot syndrome (the "DFS" group), and patients with Charcot neuro-osteoarthropathy (the "Charcot" group). Me (Q1; Q3).

ентов (рис. 3). Количество нитевидных внеклеточных ловушек в фракции мононуклеаров в группах «СДС» и «Шарко» также значимо превышало контрольные значения ($p_{\text{Kruskal-Wallis}} = 0,0009$; post hoc: для «СДС»

$p = 0,0379$, для «Шарко» $p = 0,0006$). Примечательно, что в группе «Шарко» нитевидных ловушек было статистически значимо больше, чем в группе «СДС» (post hoc: для «СДС» $p = 0,0111$) (рис. 3).

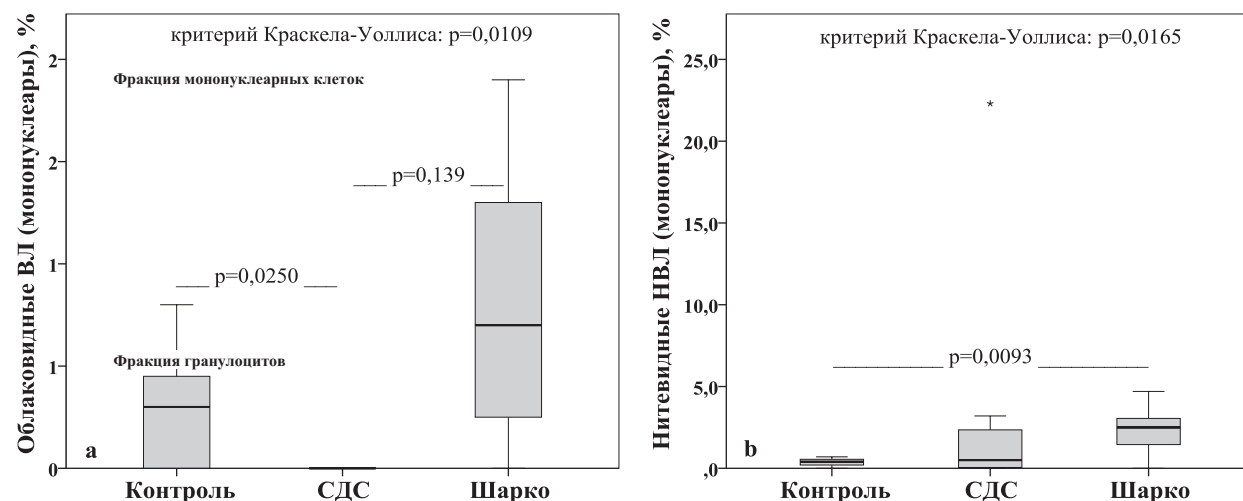
В препаратах из фракции гранулоцитов, не стимулированных активаторами, доля облаковидных внеклеточных ловушек в группах «СДС» и «Шарко» не имела значимых отличий от контрольной группы ($p_{\text{Kruskal-Wallis}} = 0,2765$). Однако в группе «СДС» количество нитевидных внеклеточных ловушек было значимо выше, чем в контроле ($p_{\text{Kruskal-Wallis}} = 0,0039$; post hoc: для «СДС» $p = 0,0141$) (рис. 3). В группе «Шарко» межквартильный размах значений был больше, чем в группе «СДС», однако апостериорный анализ не выявил статистической значимости этих различий (рис. 3). Это может указывать на неоднородность группы пациентов со стопой Шарко, которую в дальнейшем, вероятно, следует разделить на подгруппы с учетом уровня спонтанного нитевидного нетоза в гранулоцитарной фракции.

Инкубация клеток из фракции мононуклеаров, полученных при градиентном выделении в группе

«Контроль», в присутствии антигенного стимулятора (пробиотика) не вызвала существенной активации – медианы облаковидных и нитевидных внеклеточных ловушек не превышали 1%, по сути, активировались единичные клетки, то есть в препарате выявлялись 1-2 ловушки облаковидного или нитевидного типов (рис. 4). В группе «Шарко» медиана облаковидных ловушек была незначительно выше 1% – статистической значимости различий в содержании облаковидных ловушек в группе «Шарко», в сравнении с группой «Контроль» не выявлено. В группе «СДС» после воздействия антигенного стимулятора облаковидные внеклеточные ловушки не определялись (рис. 4).

При исследовании фракции гранулоцитов, выявлено снижение способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек (рис. 4). В сравнении с группой «Контроль» и в группе «СДС»,

Фракция мононуклеарных клеток.



Фракция гранулоцитов

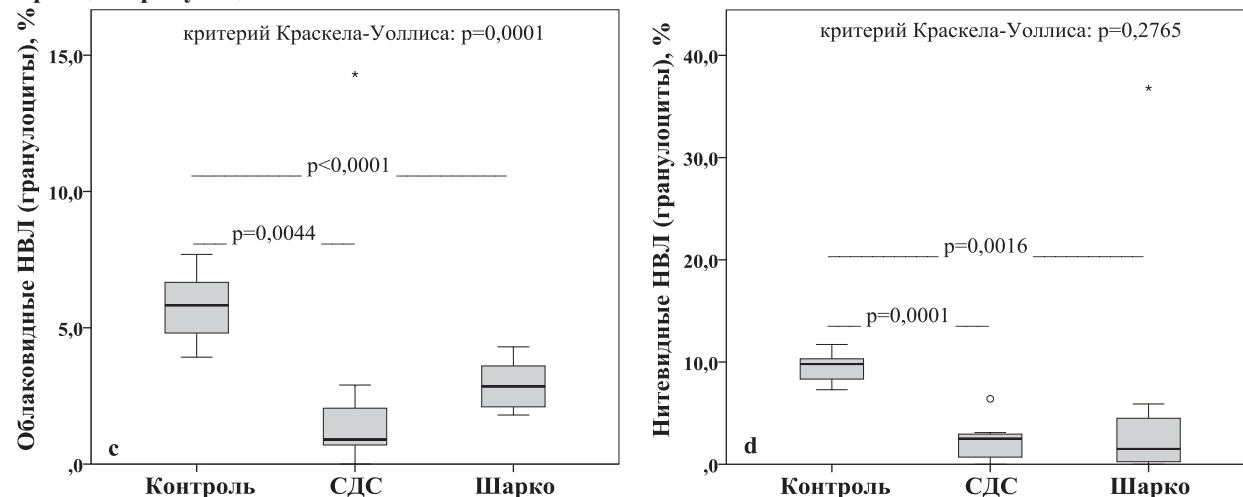


Рисунок 4. Процентное отношение облаковидных и нитевидных внеклеточных ловушек, визуализируемых в препарате клеток после 30 мин стимуляции пробиотиком, взятых на люминесцентную микроскопию из фракции мононуклеарных клеток и фракции гранулоцитов после градиентного разделения венозной крови здоровых волонтеров из группы «Контроль», пациентов с синдромом диабетической стопы (группа «СДС») и пациентов с нейроостеоартропатией Шарко (группа «Шарко»), Me (Q1; Q3).

Figure 4. Percentage of cloud-shaped and filamentous extracellular traps visualized in the cell preparation after 30 minutes of probiotic stimulation, taken for fluorescence microscopy from the mononuclear cell fraction and the granulocyte fraction after gradient separation of venous blood from healthy volunteers in the "Control" group, patients with diabetic foot syndrome (the "DFS" group), and patients with Charcot neuro-osteopathy (the "Charcot" group), Me (Q1; Q3).

и в группе «Шарко» определены статистически значимо низкие показатели доли облаковидных НВЛ и нитевидных НВЛ (рис 4). Уменьшение способности зрелых нейтрофилов к формированию НВЛ у пациентов с сахарным диабетом может свидетельствовать о снижении защитных функций гранулоцитов, находящихся на границе между градиентом с плотностью 1,077 и градиентом 1,105. Полученные данные о функциональной недостаточности нейтрофилов согласуются с литературными данными. В частности, установлено, что при сахарном диабете 1 типа у детей наблюдается снижение бактерицидной активности нейтрофилов с дефицитом поглощения, секреции активных радикалов кислорода, функционального резерва. [21]. Метаболические пути, посредством которых гипергликемия связана с дисфункцией нейтрофилов, включают в себя реакцию усиленного гликозилирования белков, полиоловый путь, образование свободных радикалов кислорода, путь оксида азота – циклический гуанозин-3'-5'-монофосфат, а также гликолитический и глутаминолитический пути [22].

Известно, что нейтрофилы демонстрируют фенотипическую и функциональную пластичность в ответ на различные физиологические и воспалительные состояния. Гетерогенные популяции нейтрофилов классифицируются на основе отдельных признаков, включая маркеры клеточной поверхности, клеточные рецепторы, степень зрелости, плотность и функции [23].

Современные данные свидетельствуют о том, что нейтрофилы можно разделить на подгруппы в зависимости от размера и плотности. Обычные нейтрофилы находятся во фракции гранулоцитов и иногда называются нейтрофилами нормальной плотности (NDN), а нейтрофилы низкой плотности (LDN) находятся во фракции мононуклеарных клеток. LDN оказывают как провоспалительное, так и иммуносупрессивное действие, что позволяет предположить, что LDN можно разделить на подгруппы [24].

Нейтрофилы низкой плотности (Low-Density Neutrophils, LDN) представляют собой субпопуляцию нейтрофилов, которые получили свое название из-за особенностей их выделения из цельной периферической крови с помощью метода градиентного центрифугирования на фиколле. В отличие от большинства нейтрофилов, которые образуют отдельную фракцию (с более высокой плотностью), эти клетки оказываются во фракции мононуклеаров (обладающих меньшей плотностью при градиентном центрифугировании) [25]. Популяция LDN неоднородна: в нее входят незрелые (предшественники) нейтрофилы, вышедшие из костного мозга в результате экстренного гемопоэза, например, в ответ на системное воспаление, а также или активированные зрелые нейтрофилы, которые в процессе активации изменили свою плотность (например, из-за дегрануляции) [25]. Показано, что LDN часто обладают повышенной способностью к образованию нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) [26], которые играют ключевую роль в борьбе с патогенами, но также

могут повреждать собственные ткани организма [27].

Роль LDN при сахарном диабете – это активно развивающаяся область исследований. Сахарный диабет 1 и 2-го типа сопровождается хроническим низкоинтенсивным воспалением, приводящим к циркуляции в крови провоспалительных цитокинов [28, 29], что создает условия для появления и активации LDN. Обнаружение большего количества LDN у больных сахарным диабетом без осложнений, а также более интенсивное образование НВЛ было обнаружено и другими авторами [30]. Появление LDN и их активность потенциально могут быть сопряжены с большими рисками осложнений для пациентов в связи с их более высокой способностью к формированию НВЛ. В свою очередь НВЛ оказывают непосредственное повреждающее действие на эндотелий, повышая тем самым риск тромбозов и дисциркуляторных расстройств [31] что в совокупности приводит к системному нарушению коагуляции – имунотромбозу [32]. Наряду с этим нерегулируемая воспалительная реакция и, формирующие НВЛ, нейтрофилы низкой плотности в месте повреждения, препятствуют нормальным процессам репарации тканей, поддерживая хроническое воспаление в ране и препятствуя ее заживлению. Подобные механизмы, несомненно, могут иметь место и в патогенезе синдрома диабетической стопы [33].

Нами было обнаружено, что НВЛ у больных с синдромом диабетической стопы и нейроостеоартропатией Шарко формируются не только в ответ на воздействие стимулятора микробного происхождения, но и спонтанно. Более того, к спонтанному нетозу склонны гранулоциты находящиеся как в слое мононуклеарных клеток, так и в слое гранулоцитов, то есть нейтрофилы низкой и нормальной плотности. Однако, нейтрофилы низкой плотности, обнаруживаемые в слое мононуклеаров, проявляют повышенную способность к формированию НВЛ, особенно у пациентов с нейроостеоартропатией Шарко. После стимуляции нейтрофилов бактериальными антигенами нейтрофилы низкой плотности, выделенные из крови пациентов с нейроостеоартропатией Шарко, активно формируют нитевидные НВЛ, однако нейтрофилы нормальной плотности не способны сформировать НВЛ в ответ на воздействие бактерий, их активность ниже в сравнении с контрольной группой, что свидетельствует о снижении их функциональной активности в контексте формирования НВЛ у больных сахарным диабетом, а значит и снижении их защитных функций.

Тем не менее, обнаруживаемые нами сетеподобные ДНК-содержащие структуры при исследовании мононуклеарной фракции методом люминесцентной микроскопии могут формироваться не только нейтрофильными лейкоцитами, но и моноцитами. Уже достаточно давно известно, что моноциты могут самостоятельно формировать внеклеточные ловушки, хотя этот феномен реже обсуждается в публикациях [34]. Дифференцировать между собой нейтрофильные и моноцитарные ловушки в рамках исследования клинического, а не экспериментального материала при помощи метода люминесцентной

микроскопии представляется весьма трудновыполнимой задачей. В тоже время, предыдущие наши исследования НВЛ у детей больных туберкулезом не показали наличия подобных сетевидных ДНК-содержащих структур в моноцитарном кольце, как и присутствия в нем LDN в значительном количестве, что может свидетельствовать в пользу нейтрофильного происхождения ловушек в моноцитарном кольце у больных сахарным диабетом с СДС. Возможно также, что присутствие LDN может стимулировать формирование моноцитарных внеклеточных ловушек. Поэтому, на наш взгляд, более корректным в отношении обнаруженных структур представляется использование встречающегося в русскоязычных публикациях термина «этоз» (от ETosis – extracellular trap) и «этотически трансформированные лейкоциты» [35], не указывая на возможный источник происхождения ловушек, поскольку в данном случае для нас интересен сам феномен их присутствия. А оценка этого феномена, представляется перспективной для разработки клинко-лабораторных подходов для оценки степени тяжести заболевания и рисков его осложнений.

Выводы. Популяция нейтрофилов в крови пациентов с сахарным диабетом первого второго типов неоднородна – при градиентном выделении нейтрофилов обнаруживаются нейтрофилы низкой плотности и нейтрофилы нормальной плотности. Присутствие нейтрофилов низкой плотности может обуславливать ряд негативных последствий, так как нейтрофилы низкой плотности демонстрируют высокую склонность к спонтанному нетозу, так и возможному стимулированию формирования моноцитарных внеклеточных ловушек, особенно у пациентов с нейроостеоартропатией Шарко, во-вторых, их противомикробная активность снижена. В то же время наблюдаемое снижение способности нейтрофилов нормальной плотности к формированию внеклеточных ловушек в ответ на стимуляцию бактериями сочетается со склонностью к спонтанному нетозу. Таким образом, нетоз у пациентов с сахарным диабетом 1-го и 2-го типа, осложненным синдромом диабетической стопы характеризуется преобладанием повреждающих эффектов НВЛ над защитными, особенно в случае СДС осложненным нейроостеоартропатией Шарко.

Прозрачность исследования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-25-20206, <https://rscf.ru/project/25-25-20206/> Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях. Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы: И.В. Друк, Д.Г. Новиков, Н.А. Кириченко, Е.А. Кирх получали финансирование из средств гранта Российского научного фонда № 25-25-20206, являясь членами научного коллектива, выполняющими работы в рамках указанного гранта.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Zhu Y, Xia X, He Q, et al. Diabetes-associated neutrophil NETosis: pathogenesis and interventional target of diabetic complications. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1202463. DOI: 10.3389/fendo.2023.1202463
- Gao F, Peng H, Gou R, et al. Exploring neutrophil extracellular traps: mechanisms of immune regulation and future therapeutic potential. *Exp Hematol Oncol*. 2025;14(1):80. DOI: 10.1186/s40164-025-00670-3
- Menegazzo L, Ciciliot S, Poncina N, et al. Netosis is induced by high glucose and associated with type 2 diabetes. *Acta Diabetol*. 2015;52(3):497-503. DOI:10.1007/s00592-014-0676-x
- Thimmappa PY, Vasishta S, Ganesh K, et al. Neutrophil (dys) function due to altered immuno-metabolic axis in type 2 diabetes: implications in combating infections. *Hum Cell*. 2023;36(4):1265-1282. DOI: 10.1007/s13577-023-00905-7
- Renwick N, Pallin J, Bo Jansen R, et al. Review and Evaluation of European National Clinical Practice Guidelines for the Treatment and Management of Active Charcot Neuro-Osteoarthropathy in Diabetes Using the AGREE-II Tool Identifies an Absence of Evidence-Based Recommendations. *J Diabetes Res*. 2024;2024:7533891. DOI: 10.1155/2024/7533891
- Argyropoulos M, Wynell-Mayow W, Johnson O, et al. Charcot neuro-osteoarthropathy: a review of key concepts and an evidence-based surgical management algorithm. *Front Clin Diabetes Healthc*. 2024;5:1344359. DOI:10.3389/fcdhc.2024.1344359
- Svensen OL, Rabe OC, Winther-Jensen M, Allin KH. How Common Is the Rare Charcot Foot in Patients With Diabetes? *Diabetes Care*. 2021;44(4):e62-e63. DOI:10.2337/dc20-2590
- Tsatsaris G, Rajamand Ekberg N, Fall T, Catrina SB. Prevalence of Charcot Foot in Subjects With Diabetes: A Nationwide Cohort Study. *Diabetes Care*. 2023;46(12):e217-e218. DOI:10.2337/dc23-0628
- Schmidt BM, Holmes CM. Updates on Diabetic Foot and Charcot Osteopathic Arthropathy. *Curr Diab Rep*. 2018;18(10):74. DOI:10.1007/s11892-018-1047-8
- Edmonds M, Manu C, Vas P. The current burden of diabetic foot disease. *J Clin Orthop Trauma*. 2021;17:88-93. DOI: 10.1016/j.jcot.2021.01.017
- Armstrong DG, Swerdlow MA, Armstrong AA, et al. Five year mortality and direct costs of care for people with diabetic foot complications are comparable to cancer. *J Foot Ankle Res*. 2020;13(1):16. DOI:10.1186/s13047-020-00383-2
- Vileikyte L, Pouwer F, Gonzalez JS. Psychosocial research in the diabetic foot: Are we making progress? *Diabetes Metab Res Rev*. 2020;36 Suppl 1:e3257. DOI:10.1002/dmrr.3257
- Sinacore DR, Smith KE, Bohnert KL, et al. Accelerated Cortical Osteolysis of Metatarsals in Charcot Neuroarthropathy: A Cross-Sectional Observational Study. *JBMIR Plus*. 2019;3(12):e10243. DOI:10.1002/jbm4.10243
- Tsatsaris G, Rajamand Ekberg N, Fall T, Catrina SB. Risk factors for Charcot foot development in individuals with diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2024;67(12):2702-2710. DOI: 10.1007/s00125-024-06271-9
- Denny MF, Yalavarthi S, Zhao W, et al. A distinct subset of proinflammatory neutrophils isolated from patients with systemic lupus erythematosus induces vascular damage and synthesizes type I IFNs. *J Immunol*. 2010;184(6):3284-3297. DOI: 10.4049/jimmunol.0902199
- Hong CW. Current Understanding in Neutrophil Differentiation and Heterogeneity. *Immune Netw*. 2017;17(5):298-306. DOI: 10.4110/in.2017.17.5.298
- Wong SL, Demers M, Martinod K, et al. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing. *Nat Med*. 2015;21(7):815-819. DOI: 10.1038/nm.3887
- Marini O, Costa S, Bevilacqua D, et al. Mature CD10+ and immature CD10- neutrophils present in G-CSF-treated donors display opposite effects on T cells. *Blood*. 2017;129(10):1343-1356. DOI: 10.1182/blood-2016-04-713206

19. Sagiv JY, Michaeli J, Assi S, et al. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer. *Cell Rep.* 2015;10(4):562-573. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.12.039
20. Kim TS, Silva LM, Theofilou VI, et al. Neutrophil extracellular traps and extracellular histones potentiate IL-17 inflammation in periodontitis. *J Exp Med.* 2023;220(9):e20221751. DOI:10.1084/jem.20221751
21. Барычева, Л.Ю., Эрдни-Горяева Н.Э. Функциональная активность нейтрофилов при сахарном диабете 1 типа у детей // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9-4. – С. 582-585.
Barycheva LY, Erdni-Goryaeva NE. Funkcional'naya aktivnost' nejtrofilov pri saharnom diabete 1 tipa u detej [The functional activity of neutrophils at diabetes of the 1 st type 1 by childfren]. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental research]. 2013;9-4: 582-585. (In Russ.).
22. Alba-Loureiro TC, Munhoz CD, Martins JO, et al. Neutrophil function and metabolism in individuals with diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res.* 2007;40(8):1037-1044. DOI:10.1590/s0100-879x2006005000143
23. Chan L, Morovati S, Karimi N, et al. Neutrophil Functional Heterogeneity and Implications for Viral Infections and Treatments. *Cells.* 2022;11(8):1322. DOI:10.3390/cells11081322
24. Silvestre-Roig C, Fridlender ZG, Glogauer M, Scapini P. Neutrophil Diversity in Health and Disease. *Trends Immunol.* 2019;40(7):565-583. DOI:10.1016/j.it.2019.04.012
25. Hassani M, Hellebrekers P, Chen N, et al. On the origin of low-density neutrophils. *J Leukoc Biol.* 2020;107(5):809-818. DOI:10.1002/JLB.5HR0120-459R
26. Dumont BL, Neagoe PE, Charles E, et al. Low-Density Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Are New Inflammatory Players in Heart Failure. *Can J Cardiol.* 2024;40(9):1524-1535. DOI:10.1016/j.cjca.2024.03.018
27. Kaplan MJ, Radic M. Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity. *J Immunol.* 2012;189(6):2689-95. DOI: 10.4049/jimmunol.1201719
28. Fedulovs A, Pahirko L, Jekabsons K, et al. Association of Endotoxemia with Low-Grade Inflammation, Metabolic Syndrome and Distinct Response to Lipopolysaccharide in Type 1 Diabetes. *Biomedicines.* 2023;11(12):3269. DOI:10.3390/biomedicines11123269
29. Okdahl T, Wegeberg AM, Pociot F, et al. Low-grade inflammation in type 2 diabetes: a cross-sectional study from a Danish diabetes outpatient clinic. *BMJ Open.* 2022;12(12):e062188. DOI:10.1136/bmjopen-2022-062188
30. Dumont BL, Neagoe PE, Charles E, et al. Low-Density Neutrophils Contribute to Subclinical Inflammation in Patients with Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci.* 2024;25(3):1674. DOI: 10.3390/ijms25031674
31. deBont CM, Boelens WC, Puijnt JGM. NETosis, complement, and coagulation: a triangular relationship. *Cell Mollimmunol.* 2019;16(1):19-27. DOI: 10.1038/s41423-018-0024-0
32. Marcos-Jubilar M, Lecomberri R, Páramo JA. Immunothrombosis: Molecular Aspects and New Therapeutic Perspectives. *J Clin Med.* 2023;12(4):1399. DOI: 10.3390/jcm12041399
33. Ibrahim I, Nuermaitaiti Y, Maimaituxun G, et al. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Are Associated with Type 2 Diabetes and Diabetic Foot Ulcer Related Amputation: A Prospective Cohort Study. *Diabetes Ther.* 2024;15(6):1333-1348. DOI: 10.1007/s13300-024-01579-6
34. Ibrahim N, Knöbl V, Hayden H, et al. Human monocyte subsets differ in their capacity to form extracellular traps. *Cell Death Discov.* 2024;10(1):281. DOI: 10.1038/s41420-024-02034-y
35. Патент № 2712179 C1 Российская Федерация, МПК G01N 33/48, G01N 33/49. Способ определения относительного количества этотически трансформированных фагоцитов : № 2019107008 : заявл. 13.03.2019 : опубл. 24.01.2020 / А. С. Гурьев, Д. В. Мосальская, А. Ю. Волков ; заявитель Общество с ограниченной ответственностью «Медтехнопарк» (ООО «Медтехнопарк»).
Patent № 2712179 C1 Rossiyskaya Federatsiya, MPK G01N 33/48, G01N 33/49: Sposob opredeleniya odnositel'nogo kolichestva etoticheski transformirovannykh fagotsitov: № 2019107008: заявлено 13.03.2019: опубликовано 24.01.2020 Gur'yev AS, Mosal'skaya DV, Volkov AYU; yayavitel' Obshchestvo s ogranichennoy otvetstvennost'yu "Medtekhnoпарк" (ООО "Medtekhnoпарк") [applicant Limited Liability Company "Medtechnopark" (ООО "Medtechnopark")]. [Patent No 2712179 C1 Russian Federation, IPC G01N 33/48, G01N 33/49: Method for determining the relative number of ethmically transformed phagocytes: No 2019107008: declared 13.03.2019: published 24.01.2020.]. 2020. (In Russ.).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

ДРУК ИННА ВИКТОРОВНА, ORCID ID: 0000-0001-8317-7765, SCOPUS Author ID: 56165927600, докт. мед. наук, доцент, e-mail: drukinna@yandex.ru ;

заведующий кафедрой внутренних болезней и семейной медицины ДПО ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, 644099, Омск, ул. Ленина, 12.

НОВИКОВ ДМИТРИЙ ГЕОРГИЕВИЧ, ORCID ID: 0000-0002-4339-2222, SCOPUS Author ID: 58583187700, канд. мед. наук, доцент, e-mail: novikov.dm.omsk@gmail.com ;

доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ДПО, заведующий Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 644001 Омск, ул. 20 лет РККА, 15/1.

ЗОЛОТОВ АЛЕКСАНДР НИКОЛАЕВИЧ, ORCID ID: 0000-0002-6775-323X, SCOPUS Author ID: 6701390654, канд. мед. наук, e-mail: zolotov@omgmu.ru ;

старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, доцент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 644099, Омск, ул. Ленина, 12.

ABOUT THE AUTHORS:

INNA V. DRUK, ORCID ID: 0000-0001-8317-7765, SCOPUS Author ID: 56165927600, Dr. sc. med., Associate Professor, e-mail: drukinna@yandex.ru ;

Head of the Department of Internal Diseases and Family Medicine, Omsk State Medical University, 12 Lenin str., 644099 Omsk, Russia.

DMITRY G. NOVIKOV, ORCID ID: 0000-0002-4339-2222, SCOPUS Author ID: 58583187700, Cand. sc. med., Associate Professor, e-mail: novikov.dm.omsk@gmail.com ;

Head of the Central Research Laboratory, Associate Professor at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, including Postgraduate Training Courses, Omsk State Medical University, 12 Lenin str., 644099 Omsk, Russia.

ALEXANDER N. ZOLOTOV, ORCID ID: 0000-0002-6775-323X, SCOPUS Author ID: 6701390654, Cand. sc. med., Associate Professor, e-mail: zolotov@omgmu.ru ;

Senior Researcher at the Central Research Laboratory, Associate Professor at the Department of Pathophysiology, Omsk State Medical University, 12 Lenin str., 644099 Omsk, Russia.

КИРИЧЕНКО НИКОЛАЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ ORCID ID: 0000-0002-8411-0973, SCOPUS Author ID: 57192925435, e-mail: honomer_1608@mail.ru ; младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 644001 Омск, ул. 20 лет РККА, 15/1.

КИРХ ЕЛИЗАВЕТА АЛЕКСАНДРОВНА, ORCID ID: 0000-0002-5649-2783, SCOPUS Author ID: 57961187500, e-mail: kirh_00@mail.ru ; ординатор 2 года обучения по специальности «Терапия» кафедры внутренних болезней и семейной медицины ДПО, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 644099, Омск, ул. Ленина, 12.

ИНДУТНЫЙ АНТОН ВАСИЛЬЕВИЧ, ORCID ID: 0000-0003-1951-5824, SCOPUS Author ID: 35191775900, докт. мед. наук, доцент, e-mail: anton@indutny.com ; заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ДПО ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 644001 Омск, ул. 20 лет РККА, 15/1.

ХОДУС ВЛАДИМИР ВЛАДИМИРОВИЧ, ORCID ID: 0009-0005-2192-1874, e-mail: operset@mail.ru ; руководитель центра критической ишемии конечностей и диабетической стопы на базе БУЗОО «КМСЧ № 9», Омск, ул. 5 Кордная 73.

САМУСЕВА НАТАЛЬЯ ЛЬВОВНА, ORCID ID: 0000-0002-7799-1311, SCOPUS Author ID: 58176711200, канд. мед. наук, доцент, e-mail: nlsam@mail.ru ; доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ДПО, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 644001 Омск, ул. 20 лет РККА, 15/1.

СОРОКИНА ЕЛЕНА АЛЬБЕРТОВНА, ORCID: 0000-0002-0784-3575, SCOPUS Author ID: 7103023216, докт. мед. наук, доцент, e-mail: destin2@yandex.ru ; заместитель главного врача по терапевтической помощи БУЗОО «КМСЧ № 9», Омск, ул. 5 Кордная 73.

РОМАШОВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА, ORCID: 0009-0003-5512-2988, e-mail: endok@rambler.ru ; врач эндокринолог центра критической ишемии конечностей и диабетической стопы БУЗОО «КМСЧ № 9», Омск, ул. 5 Кордная 73.

NIKOLAY A. KIRICHENKO, ORCID ID: 0000-0002-8411-0973, SCOPUS Author ID: 57192925435, e-mail: honomer_1608@mail.ru ; Junior Researcher at the Central Research Laboratory, Omsk State Medical University, 15/1 20-let-RKKA str., 644001 Omsk, Russia.

ELIZAVETA A. KIRKH, ORCID ID: 0000-0002-5649-2783, SCOPUS Author ID: 57961187500, e-mail: kirh_00@mail.ru ; Second-Year Resident Physician in Internal Medicine, Department of Internal Diseases and Family Medicine, Omsk State Medical University, 12 Lenin str., 644099 Omsk, Russia.

ANTON V. INDUTNY, ORCID ID: 0000-0003-1951-5824; SCOPUS Author ID: 35191775900, Dr. sc. med., Associate Professor, e-mail: anton@indutny.com ; Head of the Department Clinical Laboratory Diagnostics, including Postgraduate Training Courses, Omsk State Medical University, 15/1 20-let-RKKA str., 644001 Omsk, Russia.

VLADIMIR V. KHODUS, ORCID ID: 0009-0005-2192-1874, e-mail: operset@mail.ru ; Head of the Center for Critical Limb Ischemia and Diabetic Foot, Clinical Medical Unit No. 9, 73 5th Kordnaya str. 73, 644018 Omsk, Russia.

NATALIA L. SAMUSEVA, ORCID ID: 0000-0002-7799-1311, SCOPUS Author ID: 58176711200, Cand. sc. med., Associate Professor, e-mail: nlsam@mail.ru ; Associate Professor at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, including Postgraduate Training Courses, Omsk State Medical University, 12 Lenin str., 644099 Omsk, Russia.

ELENA A. SOROKINA, ORCID: 0000-0002-0784-3575, SCOPUS Author ID: 7103023216, Dr. sc. med., Associate Professor, e-mail: destin2@yandex.ru ; Deputy Chief Physician for Therapeutic Care, Clinical Medical Unit No. 9, 73 5th Kordnaya str. 73, 644018 Omsk, Russia.

NATALIA A. ROMASHOVA, ORCID: 0009-0003-5512-2988, e-mail: endok@rambler.ru ; Endocrinologist at the Center for Critical Limb Ischemia and Diabetic Foot, Clinical Medical Unit No. 9, 73 5th Kordnaya str. 73, 644018 Omsk, Russia.