

ГЛАВА 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА

А.Ф. Ванин

CHAPTER 3. BIOLOGICAL ROLE OF NITROUS OXIDE

Anatoly F. Vanin

В настоящее время установлено, что во всех представителях живого мира — человеке и животных, растениях и бактериях — непрерывно ферментативным путем продуцируется простейшее химическое соединение: монооксид азота, или, как его стали упрощенно называть, **оксид азота (NO)**. Он функционирует в живых организмах в качестве одного из универсальных регуляторов разнообразных физиологических и биохимических процессов [1–3]. Примечательно (и это дает повод для размышления), что в данное соединение входят элементы, составляющие атмосферу Земли, — кислород и азот.

В организме человека и животных NO синтезируется только из одного вещества — аминокислоты аргинина при участии 3 гем-содержащих изозимов: эндотелиальной, нейрональной и индуцибельной NO-синтаз (eNOS, nNOS и iNOS соответственно) [1]. Эти ферменты катализируют окисление кислородом (O₂) аминокислотной группы в гуанидиновом остатке аргинина, что приводит к высвобождению из этого остатка молекулы NO и превращению аргинина в другую аминокислоту — цитруллин. Следует отметить, что eNOS и nNOS, представляют собой конститутивные ферменты, т. е. постоянно функционирующие в эндотелии сосудов и в нейронах соответственно. При этом iNOS локализуется в иммунокомпетентных клетках, где синтезируется («индуцируется») при активации иммунной системы. В присутствии O₂ данный фермент производит NO, который выступает одним из основных эффекторов системы клеточного иммунитета, губительно действующих на мишени иммунокомпетентных клеток — бактерии, злокачественные клетки, а также вирусы [4]. Что же касается eNOS и nNOS, то они продуцируют молекулы NO, оказывающие на клетки и ткани позитивное регуляторное действие [1].

Важно, что молекулы NO — это свободно-радикальные, а следовательно, чрезвычайно активные в химическом отношении агенты. Они легко вступают в различные химические реакции, что должно было бы приводить к их быстрому исчезновению. Это делало бы невозможным характерное для них паракринное действие, т. е. влияние на клетки и ткани, расположенные на значительном расстоянии от клеток, генерирующих NO [1]. Тем не менее

в живых организмах обеспечивается стабилизация NO и его перенос на значительные расстояния. Это происходит благодаря способности оксида азота включаться в такие легко синтезируемые соединения, как S-нитрозотиолы (RS-NO) и динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиолсодержащими лигандами [5].

В работах, проведенных на ряде клеточных структур, сопоставлялись уровни ДНКЖ и RS-NO, а также других соединений, возникающих в клетках и тканях из NO [6–8]. Было обнаружено, что ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами количественно доминируют среди других производных NO. Более того, проведенное нами сопоставление уровня этих комплексов и общего количества NO, продуцируемого в тканях животных *in vivo*, показало, что значительная часть этого агента (до 70%) может включаться в ДНКЖ [7, 8]. Таким образом, есть основания утверждать, что эти комплексы можно рассматривать в качестве «рабочей формы» эндогенного NO, обеспечивающей его стабилизацию и перенос к мишеням биологического действия с последующим высвобождением из ДНКЖ [9, 10]. Более того, включение молекул NO в такие комплексы сопровождается превращением половинки этих молекул в катионы нитрозония (NO⁺). Так ДНКЖ становятся донорами не только NO, но и NO⁺ — определяющими соответственно регуляторное (позитивное) и цитотоксическое (негативное) действие комплексов, оба из которых обнаруживаются в живых организмах при запуске в них синтеза эндогенного NO [11].

Именно полная имитация биологического действия эндогенного NO, выполняемая ДНКЖ, окончательно подтверждает, что эти комплексы функционируют в живых организмах как «рабочая форма» NO. Поскольку ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами достаточно легко синтезировать химическим путем, их использование в качестве лекарственных средств — имитаторов природных ДНКЖ представляется вполне оправданным и целесообразным. В данной главе будут суммированы результаты биологических и медицинских испытаний этих химически синтезированных комплексов при сопоставлении их с действием NO, вводимого в организм в газообразной форме, у человека и животных.

Синтез ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами и способы получения потока газообразного NO

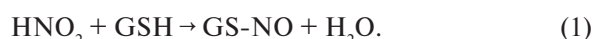
Разработаны 2 способа синтеза моноядерной формы ДНКЖ (М-ДНКЖ) с тиолсодержащими лигандами: 1) с использованием газообразного NO; 2) с применением RS-NO (рис. 1 и 2).

В основе обоих процессов лежит реакция диспропорционирования молекул либо NO, либо RS-NO, попарно связывающихся с ионом Fe²⁺, т. е. их взаимное одноэлектронное окисление-восстановление. В первом случае это приводит к появлению в лигандной сфере железа катиона нитрозония NO⁺ и аниона нитроксила NO⁻. Последний в результате протонирования превращается в молекулу нитроксила, которая выходит из комплекса с последующей дегидратацией димера HNO, приводящей к высвобождению из него закиси азота (N₂O). Что касается лигандного окружения железа, то в освободившееся в нем место включается нейтральная молекула NO. Это приводит к образованию из исходно диамагнитных комплексов [(RS⁻)₂Fe²⁺(NO)₂] парамагнитных М-ДНКЖ, характеризующихся резонансной структурой их ионной формы [(RS⁻)₂Fe²⁺(NO)(NO⁺)]⁺ (схема на рис. 1). Аналогичный комплекс возникает и при реализации схемы, представленной на рис. 2, причем для нее характерно включение 3 молекул NO в процесс образования одного М-ДНКЖ. В данном случае М-ДНКЖ образуется при участии в процессе 2 молекул RS-NO.

Не будем останавливаться детально на реализации механизма, представленного на рис. 1, — она возможна исключительно в лабораторных, но не в промышленных условиях. Дело в том, что для газообразного NO, помещенного в баллон, из-за реакции диспропорционирования между молекулами NO происходит непрерывное их превращение в диоксид азота (NO₂) и N₂O, усиливающееся при повышении давления NO в баллоне. Это не позволяет применять газообразный NO для синтеза ДНКЖ в промышленных условиях. Однако такое возможно, и уже было

реализовано, при использовании соответствующих RS-NO для получения ДНКЖ по схеме с рис. 2 [13]. Конкретный протокол такого синтеза — получения 2,5 мМ М-ДНКЖ с глутатионом в водном растворе, легко осуществимый в лабораторных условиях, приводится ниже [14].

К 10 мл дистиллированной воды последовательно добавляют 62 мг глутатиона (20 мМ), затем 28 мг FeSO₄·7H₂O (10 мМ) и после этого 6,9 мг NaNO₂ (10 мМ). После добавления первых 2 реагентов pH раствора снижается до 3,5. Таким образом, после введения нитрита, превращающегося при этих значениях pH в азотистую кислоту, начинается образование глутатионовых лигандов (GS-NO) по реакции 1:



Судя по нарастанию интенсивности полосы оптического поглощения GS-NO на 334 нм (с коэффициентом экстинкции $\epsilon = 0,94 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), для окончания реакции требуется 1–1,5 ч. После этого добавлением по каплям крепкой щелочи (NaOH) необходимо поднять pH раствора до 7,2–7,5. При этом розовая окраска раствора, характерная для GS-NO, сменится темно-коричневой, характерной для ДНКЖ с глутатионом. Этот раствор в течение 5–6 ч выдерживают на воздухе при комнатной температуре. За это время происходит осаждение не включившегося в ДНКЖ железа (10 мМ) в форме не растворимых в воде гидроокисных комплексов, удаляемых из раствора его фильтрацией на бумаге.

В итоге в растворе появляется так называемая биядерная форма ДНКЖ с глутатионом (Б-ДНКЖ-GSH), возникающая в результате обратимой конденсации 2 М-ДНКЖ. Данный механизм представлен на рис. 3.

Концентрация этих комплексов обычно определяется по интенсивности сигнала электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) при *g*-факторе центра этого сигнала, равном 2,03 — это значение характерно для М-ДНКЖ. Альтернативный способ —

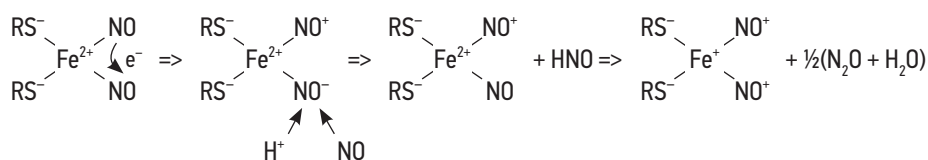


Рис. 1. Механизм образования М-ДНКЖ в реакции NO с Fe²⁺ и тиолсодержащими соединениями (по Vanin A.F. et al., 1997 [12])

Примечание: М-ДНКЖ — моноядерная форма динитрозильных комплексов железа; NO — оксид азота; Fe²⁺ — железо; RS⁻ — тиол-содержащие соединения.

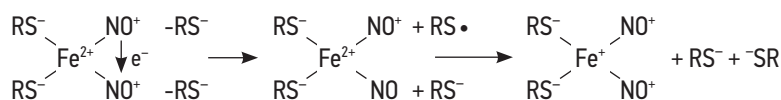


Рис. 2. Механизм образования М-ДНКЖ в реакции RS-NO с Fe²⁺ и тиолсодержащими соединениями (по Vanin A.F. et al., 1997 [12])

Примечание: М-ДНКЖ — моноядерная форма динитрозильных комплексов железа; RS-NO — S-нитрозотиол; NO — оксид азота; Fe²⁺ — железо; RS⁻ — тиолсодержащие соединения.



Рис. 3. Образование Б-ДНКЖ-GSH в результате обратимой конденсации М-ДНКЖ

Примечание: М-ДНКЖ – моноядерная форма динитрозильных комплексов железа; Б-ДНКЖ-GSH – биядерная форма ДНКЖ с глутатионом.

оценка по интенсивности полосы оптического поглощения на 360 нм при $\epsilon = 3700 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ (в пересчете на 1 атом железа), присущего Б-ДНКЖ [15].

Для обеих форм ДНКЖ характерна резонансная структура железо-динитрозильного фрагмента (ЖДНФ) – $Fe^{2+}(NO)(NO^+)$, нитрозильные лиганды в котором представлены поровну молекулами NO и катионами NO^+ . Это и определяет способность М- и Б-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами выступать в качестве доноров как NO, так и NO^+ [15].

В настоящее время в Московском технологическом университете им. Н.Э. Баумана (Москва) и Федеральном ядерном центре (г. Саров) созданы генераторы газообразного NO, образование этого агента в которых происходит в результате окисления в газовом разряде (в холодной плазме) атмосферного N_2 атмосферным O_2 по реакции 2:



В обоих генераторах образуется струя газообразного NO, которую можно направить на объект воздействия: например, по дыхательному пути – в организм человека и животных [16, 17].

ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами как доноры NO и NO^+

Способность указанных комплексов выступать в качестве доноров молекул NO ни у кого не вызывает сомнений. Общеизвестно, что включение этих

молекул в ДНКЖ обеспечивает их защиту от воздействия активных агентов, например анионов супероксида, и естественным представляется высвобождение NO из данных комплексов при их распаде [18]. Более того, сами по себе ДНКЖ способны передавать NO на соединения, характеризующиеся более высоким сродством к NO. Среди таких соединений, например, гем-содержащие белки, в частности гуанилатциклаза – фермент, взаимодействие с которым оксида азота является одним из путей его включения в метаболические процессы в живых организмах [19]. Вопрос лишь в количестве молекул NO, высвобождающихся из каждого ЖДНФ, входящего в состав М- и Б-ДНКЖ. Стоит напомнить, что, согласно вышеприведенным данным, эти комплексы могут высвобождать, причем равноэффективно, не только молекулы NO, но и катионы NO^+ [11].

Наиболее убедительными в отношении доказательства такой способности ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами можно считать результаты наших опытов по оценке количества газообразного NO, высвобождавшегося из Б-ДНКЖ-GSH, что вызывается окислением его тиолсодержащих лигандов феррицианидом ($FeCN$). Уровень газообразного NO определялся по интенсивности 4 узких, эквидистантно расположенных полос оптического поглощения NO в пределах 194–224 нм (рис. 4).

16 мл 8 мМ раствора Б-ДНКЖ-GSH в 200 мМ HEPES-буфере (pH 7,4) помещали в модифицированный аппарат Тунберга, показанный на рис. 4 слева, с последующим откачиванием воздуха из аппарата и добавлением к раствору при 60 °С в анаэробных условиях 80 мМ $FeCN$. Последнее приводило к быстрому распаду Б-ДНКЖ, о чем свидетельствовало появление в газовой фазе 4 полос NO (кривые 2 и 3 на рис. 5).

Через 20 мин (кривая 3 на рис. 5) уровень высвобождавшегося NO достигал плато, которое, судя по сопоставлению кривых 3 и 5, соответствовало

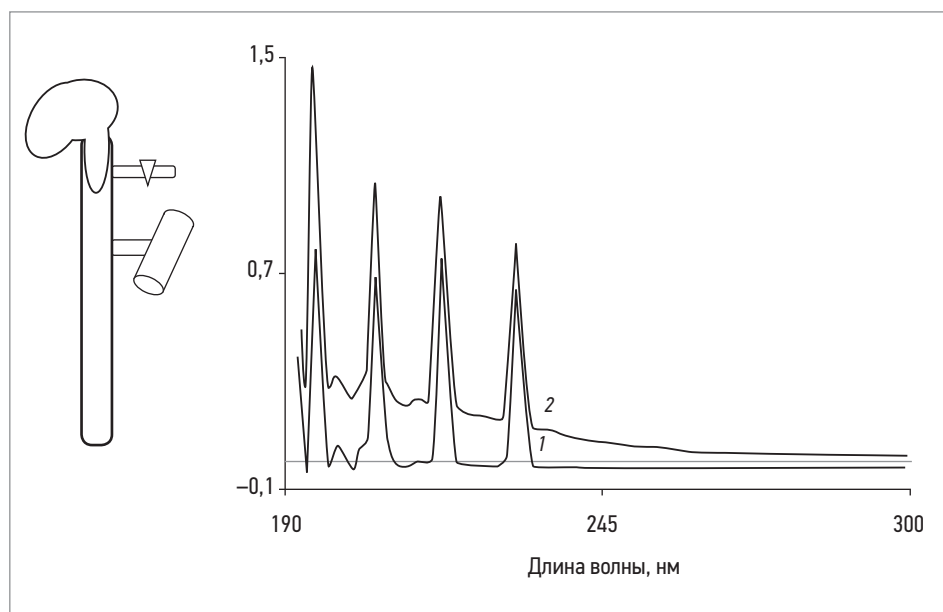


Рис. 4. Спектр оптического поглощения NO и суммарное оптическое поглощение газовой смеси NO и NO_2 (по Ванин А.Ф., 2022 [11])
Примечание: слева – схема модифицированного аппарата Тунберга, используемого для измерения оптического поглощения NO и NO_2 в газовой фазе; 1 – спектр оптического поглощения NO (4 эквидистантные узкие полосы); 2 – суммарное оптическое поглощение газовой смеси NO и NO_2 .

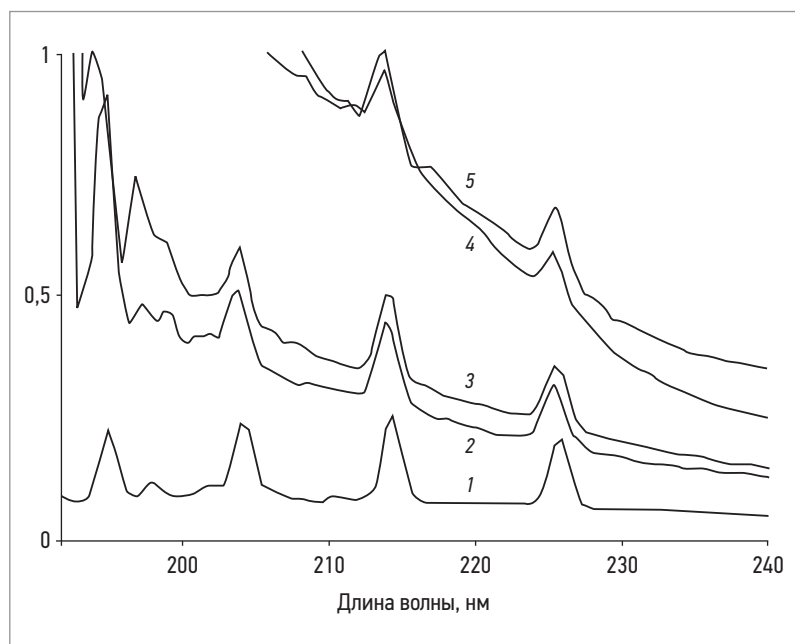


Рис. 5. Изменение оптического спектра газообразного NO, зарегистрированного в модифицированном аппарате Тунберга, в процессе распада Б-ДНКЖ-GSH (8 мМ, 16 мл) в 200 мМ ГЕПЕС буфере (рН 7,4), обусловленного введением в раствор этого комплекса в анаэробных условиях FeCN (80 мМ) (по Vanin A.F., 2019 [10])

Примечание: Б-ДНКЖ-GSH – биядерная форма динитрозильных комплексов железа с глутатионом; NO – оксид азота; FeCN – феррицианид; 2 и 3 – NO поглощения через 15 и 20 мин после добавления FeCN; 4 и 5 – первые две (из 4) полос NO поглощения через 15 и 20 мин после подкисления в анаэробных условиях раствора, соответствующего кривой 3; 1 – спектр поглощения стандартного газового образца NO (125 мМ в 100 мл свободного объема аппарата Тунберга)

120–130 мМ NO, что было равно половине нитрозильных лигандов в составе Б-ДНКЖ-GSH. В соответствии с вышеприведенными представлениями, вторая половина нитрозильных лигандов должна была высвободиться из Б-ДНКЖ в форме NO⁺. В отсутствие тиолов, которые могли бы образовать соответствующие RS-NO с этими катионами, NO⁺ должны были бы связаться с анионами гидроксила. В сильно забуференном (200 мМ) растворе HEPES это привело бы к появлению в растворе анионов нитрита при нейтральных значениях рН. Последнее можно было проверить, подкисляя раствор (естественно в анаэробных условиях), что вызвало бы превращение нитрита в молекулы азотистой кислоты с последующим высвобождением из них в результате диспропорционирования (согласно реакции 3) молекул NO и NO₂:



Последующий гидролиз аддукта NO₂ должен был приводить к равноэффективному образованию азотистой и азотной кислот. Последующее диспропорционирование молекул азотистой кислоты снова должно приводить к появлению NO и т. д. В результате до 70% нитрита в кислой среде должны были превращаться в NO, что и наблюдалось в эксперименте (кривые 4 и 5 на рис. 5).

Таким образом этот эксперимент полностью подтвердил представление о том, что ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами, действительно, могут выступать в качестве доноров как молекул NO, так и катионов NO⁺. Такой же вывод можно было сделать из наших опытов, в которых распад ДНКЖ вызывался сильным подкислением их растворов. При этом протонирование тиоловой группы в тиолсодержащих лигандах приводило к разрыву связи лигандов с атомом железа. В ходе распада высвобождавшиеся

катионы нитрозония могли связываться с тиоловыми группами с образованием S-нитрозотиолов, регистрируемых по полосе оптического поглощения на 334 нм.

Высвобождение катионов NO⁺ из ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами можно было резко усилить, обрабатывая их производными дитиокарбамата. Последние из-за высокого сродства к железомононитрозильным группам перехватывают на себя эти группы из ЖДНФ, как показано на рис. 6. При этом образуются устойчивые ЭПР-детектируемые мононитрозильные комплексы железа (МНКЖ) с производными дитиокарбамата и высвобождаются из ДНКЖ катионы NO⁺, связывающиеся с различными тиоловыми группами, в т. ч. в составе дитиокарбамата, с появлением соответствующих RS-NO.

Регуляторное действие ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами

В настоящее время накоплен значительный экспериментальный материал (табл. 1), который свидетельствует о способности ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами как доноров NO оказывать разнообразное регуляторное (позитивное) воздействие на живые организмы. Причем оно полностью имитирует аналогичное воздействие эндогенного NO (точнее, системы, включающей помимо молекул NO разнообразные его производные – ДНКЖ, RS-NO, органические и неорганические нитриты и нитраты). Этот результат находится в полном соответствии с выдвигаемым утверждением о том, что ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами следует рассматривать как основную «рабочую форму» системы эндогенного NO.

Если же учесть, что система эндогенного NO, а следовательно, и ее «рабочая форма» – ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами – функционируют практически во всех жизненных процессах, можно

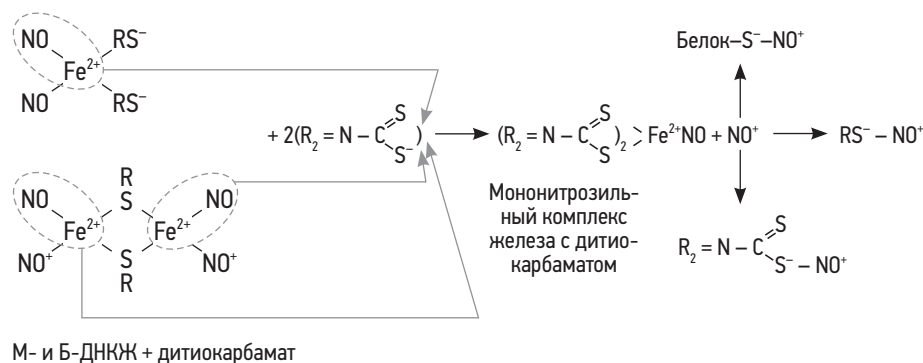


Рис. 6. Механизм разрушительного действия дитиокарбамата на М- и Б-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами с высвобождением из них катионов нитрозония (по Vanin A.F. et al., 2021 [20])

Примечание: М- и Б-ДНКЖ – моноядерная и биядерная формы динитрозильных комплексов железа соответственно.

уверенно заявить: приведенный в табл. 1 перечень будет существенно расширен.

Для экзогенных ДНКЖ характерна более высокая эффективность в дозовом отношении, например, сосудорасширяющего и ранозаживляющего действия по сравнению с тем же действием газообразного NO. Первое иллюстрируется данными с рис. 7, где приведена дозовая зависимость релаксации изолированных кольцевых сегментов аорты крыс, вызванной газообразным NO, М-ДНКЖ с цистеином или ацетилхолином [51]. Как видно, М-ДНКЖ с цистеином в дозовом отношении был столь же эффективным, как эндогенный вазодилатор – ацетилхолин. Добавление гемоглобина как перехватчика NO угнетало вазодилаторную активность ДНКЖ и ацетилхолина.

В присутствии супероксиддисмутазы (SOD), снижающей уровень супероксида и тем самым предотвращающей гибель NO под его действием, вазодилаторный эффект ДНКЖ и ацетилхолина усиливался. Аналогично SOD влияла на вазодилаторное действие газообразного NO. При этом эффект приближался к аналогичному действию ДНКЖ в отсутствие SOD. Это означает, что включение NO в ДНКЖ обеспечивало его стабилизацию (защищало от действия супероксида), так же как SOD обеспечивала аналогичную защиту свободных молекул NO. Атропин стабилизировал действие ацетилхолина [51].

Что касается сопоставления ранозаживляющего действия NO и Б-ДНКЖ-GSH, то при одинаковой

Таблица 1. Регуляторное воздействие ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами на различные физиологические и биохимические процессы в живых организмах

Виды воздействия	Источник*
Мощное вазодилаторное и гипотензивное действие	13, 19, 22–25
Подавление агрегации тромбоцитов	26, 27
Повышение эластичности эритроцитов	28
Ускорение заживления кожных ран	29, 30
Повышение выживаемости животных при геморрагии	31
Пенис-эректильное действие	32
Антиапоптотическое действие на культуру нормальных клеток человека и животных	33, 34
Активация и подавление активности некоторых генов	35–39
Усиление когнитивной активности животных	40
Защита миелиновой оболочки нейронов при воспалительных процессах в головном мозге	41
Активация синтеза стрессорных белков	42, 43
Подавление фиброзного поражения почек и кавернозной ткани	44, 45
Антиоксидантное действие	18, 46, 47
Регуляция активности электрон-транспортных железо-серных белков	48
Регуляция входа железа в клетки и выхода из них	49
Стимуляция усвоения железа при заболевании пшеницы ржавчиной	2
Уменьшение некротической зоны при экспериментальном инфаркте миокарда	50

Примечание: * – см. список литературы в конце главы; ДНКЖ – динитрозильные комплексы железа.

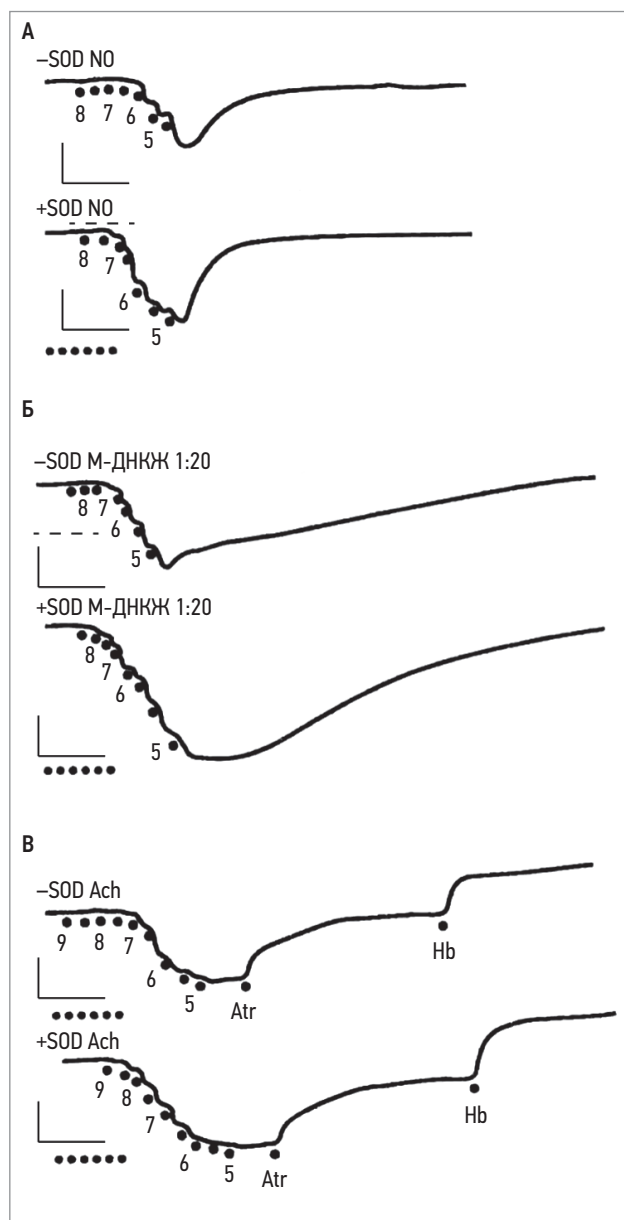


Рис. 7. Вазодилаторное действие в отсутствие и присутствии супероксиддисмутазы на предварительно сокращенные норэпинефрином (10^{-7} M) изолированные кольцевые сегменты аорты крысы без удаления эндотелия: А – действие NO; Б – М-ДНКЖ с цистеином; В – ацетилхолина
Примечание: NO – оксид азота; М-ДНКЖ – моноядерная форма динитрозильных комплексов железа с цистеином; Ach – ацетилхолин; Atr – атропин; Hb – гемоглобин; -SOD и +SOD – супероксиддисмутазы; точками указаны моменты введения вазодилаторов (в log M), атропина (Atr, 10^{-5} M) или гемоглобина (Hb, 10^{-5} M). Вертикальная черта – 1 г, горизонтальная – 5 мин.

эффективности заживляющего действия этих агентов на кожные раны для Б-ДНКЖ она достигалась при концентрации, в 25 раз меньшей, чем для NO [52].

Высокая вазодилаторная активность ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами лежит в основе их эффективного гипотензивного действия на животных и человека. Включение в кровь путем внутривенного введения их растворов, действительно, приводит к выраженному снижению артериального давления (АД). Согласно нашим данным, при-

веденным, у человека 20%-ное снижение АД достигается при дозе Б-ДНКЖ-GSH 0,2 мкМ на 1 кг веса, у крыс – 1 мкМ/кг [13]. Казалось бы, в соответствии с данными рис. 7, аналогичное, возможно менее эффективное в дозовом отношении, действие должен был оказывать и молекулярный (газообразный) NO, вводимый в организм животных и человека по респираторному пути через легкие. Проведенные нами эксперименты показали, что через легкие молекулярный NO действительно поступает в кровь, т. е. в организм как животных, так и человека [16]. О поступлении NO в кровь можно было судить по регистрации в крови интенсивного сигнала ЭПР гем-нитрозильных комплексов гемоглобина. Однако при этом никакого снижения АД, вплоть до подачи в организм животных и человека потока газообразного NO в концентрации 2 000 ppm, обнаружено не было. Оно начинало регистрироваться только при одновременном введении в организм газообразного NO (по дыхательному пути) и растворов различных тиолов (внутривенным способом), причем дозозависимым от концентрации тиолов – GSH, N-ацетил-L-цистеина (NAC) или L-цистеина. Этот эффект иллюстрируется на рис. 8, где демонстрируется дозозависимое снижение АД у крысы при внутривенном введении глутатиона в дозах 1,6 мкМ/кг или 4,8 мкМ/кг, соответствующих повышению его концентрации в крови крыс на 20 и 60 мкМ, и одновременном введении животному потока газообразного NO в концентрации 1 000 ppm [53].

Ранее подобный эффект – резкое усиление под действием низкомолекулярных тиолов релаксации изолированных кольцевых препаратов аорты крыс, инкубированных с S-нитрозогемоглобином (SNO-Hb) – наблюдали M. Wolzt *et al.* [54], а также Y. Zhang и N. Hogg [55]. Предполагается, что низкомолекулярные тиолы (глутатион, цистеин и др.) перехватывали на себя катионы NO^+ с белковых S-нитрозотиолов. Образующиеся в результате низкомолекулярные RS-NO, собственно, начинали эффективно продуцировать NO, что приводило к усилению вазодилатации. Не удалось найти исследования того, реализуется ли этот механизм в организме животных, что должно проявляться усилением гипотензивной активности в эритроцитах посредством S-нитрозогемоглобина (SNO-Hb). По нашему мнению, такой механизм вряд ли возможен. Дело в том, что, например, глутатион вряд ли способен эффективно проникать сквозь мембрану эритроцитов с последующим перехватыванием на себя катиона NO^+ , выходом GS-NO из эритроцитов и высвобождением NO из этого соединения.

Именно такое быстро реализующееся гипотензивное действие глутатиона мы наблюдали в наших опытах (рис. 8). Оно могло происходить по следующему пути: часть поступающих в кровь молекул газообразного NO, проникая в эритроциты, связывалась с гемоглобином как в форме гем-нитрозильных комплексов, так и в форме SNO-Hb,



Рис. 8. Изменение среднего артериального давления у крысы в условиях ингаляции газообразного NO с последующим одновременным внутривенным введением глутатиона в дозе 1,6 мМ/кг или 4,8 мМ/кг (по Ванин А.Ф. и др., 2023 [53])
Примечание: NO – оксид азота; ЧСС – частота сердечных сокращений; САД – среднее артериальное давление.

не оказывая при этом заметного влияния на АД. Другая часть молекул NO вступала в реакции с ионами Fe^{3+} в молекулах трансферрина и восстанавливала ионы железа по механизму восстановительного нитрозирования до Fe^{2+} , в котором они способны связывать попарно молекулы NO и обеспечивать реакцию диспропорционирования между ними, аналогичную приведенной на рис. 1. Появляющиеся в ходе этой реакции катионы NO^+ в отсутствие тиолов могли связываться, например, с ионами хлора и образовывать сравнительно устойчивый нитрозохлорид. При добавлении тиолов это соединение могло бы инициировать образование как низкомолекулярных RS-NO, так и ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами. Оба этих соединения как доноры NO были способны инициировать эффект гипотензии.

Остается открытым вопрос, какой из 2 рассмотренных механизмов, связанных с наличием в крови гемового и негемового железа, ответственен за отраженный на рис. 8 эффект. Надеемся, что ответ на него дадут дальнейшие исследования.

Цитотоксическое воздействие ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами на биосистемы

В настоящее время большинство исследователей полагают, что цитотоксическое действие системы эндогенного NO обусловлено превращением NO в его реакции с анионом супероксида в пероксинитрит

($ONOO^-$). Это соединение, стабильное при щелочных значениях pH, протонируется при нейтральных («физиологических») значениях pH с последующим распадом на гидроксильный радикал (OH) и диоксид азота, которые и оказывают цитотоксическое действие на живые организмы [56, 57]. Что касается аналогичного действия катионов нитрозония, о чем упоминалось в первом разделе этого обзора, впервые оно было продемонстрировано в работе английских исследователей [58] в их экспериментах на культуре фибробластов. В качестве донора NO^+ использовали нитропруссид натрия – $Na_2[(CN)_5Fe^{3+}NO^+]$. Оказалось, что в дозовом отношении катионы NO^+ , высвобождающиеся из нитропрусида, в 40 раз более цитотоксичны, чем молекулы NO, введенные в культуральную среду либо в форме газообразного NO, либо в составе его доноров – GS-NO или S-нитрозо-N-ацетил-L-цистеина (NAC-NO). При концентрации 20 мкМ катионы NO^+ вызывали апоптоз у 50% фибробластов уже через 2 ч после добавления нитропрусида. При этом молекулы NO при концентрации 800 мкМ оказывали аналогичное действие на клетки лишь через 24 ч после добавления в клеточную культуру газообразного NO, GS-NO или NAC-NO.

Следует отметить, что в этих экспериментах осталось невыясненным, было ли цитотоксическое действие нитропрусида обусловлено высвобождением из него анионов цианида. Более убедительные данные о цитотоксическом действии катио-

нов NO^+ были получены в работе в экспериментах по одновременной обработке опухолевых клеток линии *Jurkat* человека М-ДНКЖ с тиосульфатом и производным дитиокарбамата – N-метил-D,L-глуксаминдитиокарбаматом (МГД) [59]. Оказалось, что при действии этой смеси эффективность цитотоксикоза существенно превышала суммарный эффект М-ДНКЖ и МГД, рассчитанный при условии, что эти агенты не вступают в реакцию друг с другом. Между тем такая реакция, как показано на рис. 6, должна была произойти. С одной стороны, она привела бы к образованию устойчивых МНКЖ с МГД, «выводящих из игры» молекулы NO , которые исходно входили в состав М-ДНКЖ с тиосульфатом. С другой – реакция вызвала бы высвобождение из этих комплексов катионов NO^+ , которые, очевидно, и оказывали, как полагают авторы, эффективное цитотоксическое действие на клетки *Jurkat* [59].

Подход с использованием производного дитиокарбамата для усиления цитотоксического действия ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами на биосистеме был использован нами при изучении совместного влияния этих агентов и производных дитиокарбамата на культуру опухолевых клеток MCF-7 человека и бактерии *Escherichia coli* [60, 61]. Было зафиксировано необычайно резкое (синэргетическое) усиление цитотоксического действия ДНКЖ на эти биосистемы под влиянием производных дитиокарбамата – МГД и диэтилдитиокарбамата (ДЭТК). Это свидетельствует о том, что именно катионы NO^+ , будучи производными одного из универсальных регуляторов метаболических процессов – NO , отвечают за цитотоксическое действие системы оксида азота, функционирующей во всех представителях живого мира.

В связи с этим естественным шагом была попытка выяснить, способны ли ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами подавить в присутствии производных дитиокарбамата размножение коронавируса SARS-Cov-2, причем не в клеточной культуре, а в организме животных? Проверить такую возможность в экспериментах на сирийских хомячках вызвались сотрудники Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора РФ (пос. Кольцово Новосибирской обл.).

Животным, помещенным в закрытую камеру, подавали воздух и 10 мл распыленных в небулайзере 10 мМ растворов сначала Б-ДНКЖ-GSH в течение 30 мин, а затем, через полчаса, – ДЭТК в течение тех же 30 мин. Такое введение препаратов сирийским хомячкам, зараженным SARS-Cov-2, проводилось в течение 4 суток дважды в сутки. После этого животных забивали с последующим забором тканей носовой полости и легких для определения в них количества РНК вируса в гомогенатах тканей методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени через показатель Ct (число циклов) и методом титрования на культуре клеток *Vero* 6 ($\lg \text{TCID}_{50}/\text{ml}$) [62].

Анализ результатов (табл. 2) показал, что только в тканях носовой полости при аэрозольном введении Б-ДНКЖ-GSH вирусная нагрузка достоверно снижалась в 16 раз по сравнению с контрольными животными (плацебо). При этом по инфекционному титру ($\lg \text{TCID}_{50}/\text{ml}$) достоверное снижение вирусной нагрузки ни в ткани носовой полости, ни в тканях легких не обнаружено.

Лечебный эффект использованных препаратов заметно повышался при последовательном введении животным сначала Б-ДНКЖ-GSH, а затем ДЭТК. Судя по результатам ОТ-ПЦР (Ct), уровень РНК в тканях носовой полости снижался, как и при ингалировании только Б-ДНКЖ-GSH, в те же 16 раз. Однако при использовании комбинации препаратов лечебный эффект начинал проявляться и для тканей легкого: уровень РНК вируса снижался в них, по сравнению с плацебо, в 20 раз. При оценке эффективности лечения методом титрования вируса, по крайней мере для тканей носовой полости, получен еще более выраженный результат: титр вируса уменьшался, по сравнению с плацебо, в 200 раз, тогда как в тканях легких это снижение практически не менялось по сравнению с определением вирусной нагрузки методом ОТ-ПЦР (в 20 раз) [62].

Результаты, полученные после аэрозольного введения зараженным хомячкам только ДЭТК или ДЭТК с последующей подачей Б-ДНКЖ-GSH, продемонстрировали полное отсутствие лечебного эффекта этих препаратов при таком способе их применения [62].

Таблица 2. Вирусная нагрузка в тканях носовой полости и тканях легких сирийских хомячков, интраназально инфицированных вирусом SARS-CoV-2

Соединение	Вирусная нагрузка в тканях носовой полости		Вирусная нагрузка в тканях легкого	
	$\lg \text{TCID}_{50}/\text{ml}$	Ct	$\lg \text{TCID}_{50}/\text{ml}$	Ct
Б-ДНКЖ-GSH	$4,1 \pm 0,5$	$23,83 \pm 1,27$	$4,4 \pm 0,8$	$20,67 \pm 2,13$
Б-ДНКЖ-GSH + ДЭТК	$2,7 \pm 0,4$	$27,28 \pm 3,44$	$2,4 \pm 0,4$	$30,33 \pm 1,18$
Плацебо	$5,0 \pm 0,5$	$19,80 \pm 2,19$	$3,7 \pm 0,4$	$25,96 \pm 1,60$

Примечание: Б-ДНКЖ-GSH – биядерная форма ДНКЖ с глутатионом; ДЭТК – диэтилдитиокарбамат. Более низкие пороговые значения числа циклов (Ct) указывают на более высокую вирусную нагрузку.

Основное, главное свойство катионов NO^+ , определяющее их функциональную роль в живых организмах, — способность S-нитрозировать тиолы как низкомолекулярной, так и белковой природы [63]. Поэтому есть основание предполагать, что именно иницируемая катионами реакция S-нитрозирования разнообразных вирусных белков — протеаз, белков оболочки вируса, обратных транскриптаз, факторов транскрипции, а также протеаз хозяина — обеспечивает ослабление вирусной продукции в организме хозяина, являясь эффективным средством защиты организма животных и человека от вирусной инфекции, в т. ч. вызываемой вирусом SARS-CoV-2.

Встает вопрос, возможно ли получить такие ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами, которые бы сами по себе, без разрушительного действия на них других соединений (например, производных дитиокарбамата) высвобождали значительное количество NO^+ , обеспечивая тем самым противовирусный эффект при том же SARS-CoV-2. Решению этой проблемы посвящен наш проект, реализуемый при поддержке Российского научного фонда. Предполагается, что, меняя тиоловые лиганды в ДНКЖ, можно будет найти такие слабо устойчивые ДНКЖ, которые сами по себе или под действием анионов супероксида или эндогенных хелаторов железа будут легко распадаться и высвобождать катионы NO^+ , блокирующие вирусную инфекцию.

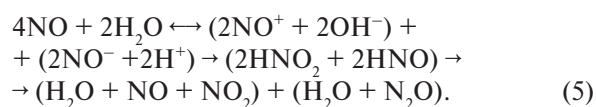
В ходе пандемии COVID-19 врачи *Е.В. Печенкин* и *А.В. Коврижкин* (г. Ставрополь) проверили действие высокодозовой ингаляции газообразного NO на состояние больных средней и тяжелой тяжести, находившихся на высокопоточной оксигенации с сохраненным спонтанным дыханием [64]. Высокодозовую ингаляцию NO проводили в обе ноздри больного при его спонтанном дыхании с расстояния 8 см с концентрацией NO 1000 ppm в течение 5 мин 2–3 раза в день, чередуя во время сеанса лечение ингаляцией NO с высокопоточной оксигенацией. Кроме того, дополнительно таким же потоком NO с расстояния 8 см обрабатывали поверхность кожи спины в положении лежа на животе в течение 5 мин. Эти манипуляции проводили 2–3 раза в день в течение 5–10 суток до купирования признаков острого респираторного дистресс-синдрома.

В полном соответствии с вышеприведенными данными об отсутствии гипотензивного действия ингаляции животных и человека газообразным NO [16] аналогичная ингаляция пациентов с COVID-19 при концентрации NO в газовом потоке вплоть до 2000 ppm ни при каких условиях не приводила к заметному снижению системного АД. Что же касается подавления коронавирусной инфекции, то на 5–10-е сутки воздействия NO 18 пациентов, согласившихся на эту процедуру, избежали перехода на искусственную вентиляцию легких, выжили и выздоровели.

Не исключено, что этот результат был обусловлен генерацией катионов нитрозония NO^+ в крови пациентов в результате приведенной на рис. 1 реакции диспропорционирования молекул NO на атомах негемового железа. Интересно, что впервые этот процесс наблюдал ученый, открывший азот в составе атмосферы и обнаруживший его окисление до NO — великий *Джозеф Пристли*. Пропуская газовый NO над нагретыми опилками железа, он обнаружил превращение NO в диоксид и закись азота (NO_2 и N_2O) [65]. Легко показать, что это превращение обеспечивается гидролизом ионов NO^+ и NO^- , возникающих при диспропорционировании 2 молекул NO:



Введем в реакцию 4 молекулы воды. Для этого умножим обе части уравнения на 2 и введем в них по 2 молекулы воды:



Сократив в обеих частях 2 молекулы воды и молекулу NO, получаем стехиометрическое уравнение:



Это уравнение было получено экспериментальным путем при изучении превращения газообразного NO в NO_2 и N_2O при давлениях NO порядка нескольких десятков атмосфер, обеспечивающих сближение молекул NO и реакцию диспропорционирования между ними [65]. Такие же процессы поддерживаются атомами и ионами железа: связывая молекулы NO, они тем самым сближают их, делая возможной реакцию диспропорционирования при низком давлении NO. Именно это и происходит при образовании ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами в живых организмах.

Говоря о токсическом действии катионов нитрозония на вирусы, культуры клеток животных и на бактерии, обусловленном связыванием NO^+ с тиоловыми группами критических тиолсодержащих белков, следует отметить способность этих катионов подавлять такое важное для выживаемости клеток и тканей явление как апоптоз. Впервые о такой способности NO^+ , а точнее ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами, как доноров этих катионов было заявлено в работе американского исследователя NO — *Т. Биллиара* и его коллег [44]. Биосистема, регулирующая апоптоз, включает в себя множество тиолсодержащих белков, в частности терминальный фермент этой системы — каспазу-3. Поэтому есть основание полагать, что именно S-нитрозирование данных белков, приводящее к подавлению их биологической активности, лежит в основе способности катионов NO^+ и их доноров, ДНКЖ с тиолсодержа-

щими лигандами, подавлять экспрессию апоптоза и тем самым предотвращать гибель клеток и тканей, а также всего организма по механизму апоптоза. Не исключено, что аналогичное антиапоптотическое действие может реализоваться в организме животных и человека при ингаляционном введении в него газообразного NO при его выше рассмотренном связывании с ионами железа.

Не исключено, что именно этот эффект может лежать в основе способности газообразного NO купировать постковидный синдром у пациентов, переболевших тяжелой формой COVID-19 [66]. Появляющиеся в организме пациентов при таком лечении катионы NO⁺ могут блокировать сдвиг в сторону апоптоза клеток и тканей, в частности тканей сосудов, пострадавших от вирусной инфекции, и тем самым усиливать процессы жизнедеятельности и выживания этих биосистем.

Заключение

Функционирование NO, одного из универсальных регуляторов метаболических процессов в живых организмах, определяется его взаимодействием с негемовым железом. Это взаимодействие может обеспечивать как стабилизацию NO (путем его включения в ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами), так и превращение в катионы NO⁺ (в результате реакции диспропорционирования молекул NO при их попарном связывании с ионами Fe²⁺). Только учет этого взаимодействия может привести к дальнейшему развитию фундаментальных представлений о функционировании системы эндогенного NO в различных представителях живого мира и созданию лекарственных средств «природного» типа, способных обеспечить дальнейший прогресс в медицине.

Литература

1. Ignarro L.J. (2000) Nitric oxide biology and pharmacology. Zurich, Switzerland, Academic Press.
2. Graziano M., Lamattina L. (2005) Nitric oxide and iron in plants: an emerging and converging story Trends Plant Sci. 10, 4–8.
3. Stern A., Zhu J. (2014) An introduction to nitric oxide sensing and response in bacteria. *Advances in Applied Microbiology* 87, 187–220.
4. Jiang W., Dong W., Li M. et al. (2022) Nitric oxide induces immunogenic cell death and potentiates cancer immunotherapy. *Am. Chem. Soc. Nano* 16, 3881–3886.
5. Ванин А.Ф. (1998) Динитрозильные комплексы железа и S-нитрозотиолы – две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота в биологических системах. *Биохимия* 63, 924–938.
6. Hickok J.R., Sahni S., Shen H., Arvindt A., Antoniou C., Fung L.M.W., Thomas D.D. (2011) Dinitrosyliron complexes are the most abundant nitric oxide-derived cellular adduct: biological parameters of assembly and disappearance *Free Rad. Biol Med.* 51, 1558–1666.
7. Mikoyan V.D., Burgova E.N., Borodulin R.R., Vanin A.F. (2017) The binuclear form of dinitrosyl iron

complexes with thiol-containing ligands in animal tissues. *Nitric Oxide Biol Chem* 62, 1–10.

8. Микоян В.Д., Бургова Е.Н., Бородулин Р.Р., Ванин А.Ф., (2020) Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами представлены в живых организмах в основном их биядерной формой. *Биофизика* 65, 1142–1153.

9. Vanin A.F. (2016) Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a “working form” of endogenous nitric. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 54, 15–19.

10. Vanin A.F. (2019) Dinitrosyl iron complexes as a “working form” of nitric oxide in living organisms. Cambridge: Cambridge Scholar Publishing.

11. Ванин А.Ф. (2022) Позитивное (регуляторное) и негативное (цитотоксическое) действие динитрозильных комплексов железа в живых организмах. *Биохимия* 87, 1739–1760.

12. Vanin A.F., Malenkova I.V., Serezhenkov V.A. (1997) Iron catalyzes both decomposition and synthesis of S-nitrosothiols: Optical and electron paramagnetic resonance studies. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 1, 191–203.

13. Chazov E.I., Rodnenkov O.V., Zorin A.V. et al. (2012) Hypotensive effect of “Oxacom” containing a dinitrosyl iron complex with glutathione: animal studies and clinical trials on healthy volunteers. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 26, 147–157.

14. Borodulin R.R., Kubrina L.N., Shvydkiy V.O., Lakomkin V.L., Vanin A.F. (2013) A simple protocol for the synthesis of dinitrosyl iron complexes with glutathione: EPR, optical, chromatographic and biological characterization of reaction products. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 35, 110–115.

15. Vanin A.F., Poltorakov A.P., Mikoyan V.D., Kubrina L.N., Burbaev D.Sh. (2011) Polynuclear water-soluble dinitrosyl iron complexes with cysteine or glutathione ligands: Electron paramagnetic resonance and optical studies *Nitric Oxide Biol. Chem* 23, 136–149.

16. Ванин А.Ф., Пекшев А.В., Вагапов А.Б. и др. (2021) Газообразный оксид азота и динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами как предполагаемые лекарственные средства, способные купировать COVID-19. *Биофизика* 66, 183–194.

17. Буранов С.Н., Буянов А.Б., Воеводин С.В., Карелин В.И., Селемир В.Д., Ширшин А.С. (2016). Агрегат для ингаляционной NO терапии. *Биорадикалы и антиоксиданты* 3, 225–226.

18. Shumaev K.B., Gubkin A.A., Serezhenkov V.A. et al. (2008) Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin- and methemoglobin-bound dinitrosyl-iron complexes. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 18, 37–46.

19. Mülsch A., Mordvintcev., Vanin A.F., Busse R. (1991) The potent vasodilating and guanylyl cyclase activating dinitrosyl-iron (II) complex is stored in a protein-bound form in vascular tissue and is released by thiol. *FEBS Lett.* 294, 252–256.

20. Vanin A.F., Tronov V.A., Borodulin R.R. (2021) Nitrosonium cation as a cytotoxic component of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands (based

on the experimental work on VCF-7 human breast cancer cell culture). *Cell Biochem. Biophys.* 79, 93–102.

21. Клещев А.Л., Мордвинцев П.И., Ванин А.Ф. (1985) Роль оксида азота и железа в гипотензивном действии нитрозильных комплексов железа с различными анионными лигандами. *Studia Biophys.* 105, 93–102.

22. Галаган М.Е., Орановская Е.В., Мордвинцев П.И. и др. (1988) Гипотензивный эффект динитрозильных комплексов железа в опытах на бодрствующих животных. Бюлл. Всесоюзного кардиол. центра 2. 73–79.

23. Flitney F.W., Megson L.I., Flitney D.E., Butler A.R. (1992) Iron-sulfur cluster nitrosyls: a novel class of nitric oxide generator: mechanism of vasodilator action on rat isolated tail artery. *Brit. J. Pharmacol.* 107, 842–847.

24. Lakomkin V.L., Vanin A.F., Timoshin A.A. et al. (2008) Long-lasting hypotensive action of stable preparation of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands in conscious normotensive and hypertensive rats. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 16, 413–418.

25. Timoshin A.A., Lakomkin V.L., Abramov A.A. et al. (2015) The hypotensive effect of nitric monooxide donor Oxacom at different routes of its administration to experimental animals. *Eur. J. Pharmacol.* 765, 525–532.

26. Мордвинцев П.И., Руднева В.Г., Ванин А.Ф. и др. (1986) ингибирующее действие динитрозильных комплексов железа с низкомолекулярными лигандами на агрегацию тромбоцитов. *Биохимия* 51, 1861–1857.

27. Архипова М.М., Микоян В.Д., Ванин А.Ф. (2008) Влияние экзогенных доноров оксида азота и ингибиторов его ферментативного действия на ишемию вены конъюнктивы глаза кролика при ее экспериментальном тромбозе. *Биофизика* 53, 315–325.

28. Шамова Е.Б., Бичан О.Д., Дрозд Е.С. и др. (2011) Регуляция функциональных и механических свойств тромбоцитов и эритроцитов донорами оксида азота. *Биофизика* 56, 265–271.

29. Шехтер А.Б., Руденко Е.Г., Сереженков В.А., Ванин А.Ф. (2007) Динитрозильные комплексы железа с цистеином или глутатионом ускоряют заживление кожных ран. *Биофизика* 52, 5434–5438.

30. Shekhter A.B., Rudenko T.G., Istranov L.P. et al. (2015) Dinitrosyl iron complexes with glutathione incorporated into collagen matrix as a base for the design of drugs accelerating wound healing. *Eur. J. Pharmaceutical Sci.* 78, 8–18.

31. Remizova M.I., Kochetygov N.I., Kerbut K.A. et al. (2011) Effect of dinitrosyl iron complexes with glutathione on hemorrhagic shock followed by saline treatment. *Eur. J. Pharmacol.* 662, 40–46.

32. Andreev-Andriyevsky A.A., Mikoyan V.D., Serzhenkov V.A., Vanin A.F. (2011) Penile-erectile activity of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 24, 217–223.

33. Yalowich J.E., Gorbunov N.V., Kozlov A.V., Allan W., Kagan V.E. (1999) Mechanism of nitric oxide

protection against tert-butyl-hydroperoxide-induced cytotoxicity in iNOS-transduced human erythroleukemia cells. *Biochem.* 38, 10691–10698.

34. Kim Y.M., Chung H.T., Symmons R.L., Billiar T. (2000) Cellular nonheme iron content is a determinant of nitric oxide-mediated apoptosis, necrosis, and caspase inhibition. *J. Biol. Chem.* 275, 10954–10961.

35. Ding H., Demple B. (2000) Direct nitric oxide transduction via nitrosylation of iron-sulfur centers in the SoxR transcription activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 5146–5150.

36. Васильева С.В., Ступакова М.В., Лобышева И.И., Микоян В.Д., Ванин А.Ф. (2001) Активация SoxRS-регулона в *Escherichia coli* оксидом азота и его физиологическими донорами. *Биохимия* 66, 1209–1214.

37. Crack J.C., Smith J., Stapleton M.R., Peck J., Wamough N.J., Buttner M.J., Buxton R.R., Green J., Oganessian V.S., Tohomson A.J. Le Brun N.E. (2011) Mechanistic insight into the nitrosylation of the [4Fe-4S] cluster in WhiB-like proteins. *J. Am. Chem. Soc.* 133, 1112–1121.

38. Lo F.C., Lee J.F., Liaw W.F. et al. (2012) The metal core in the recombinant *Escherichia coli* transcriptional factor SoxR. *Chem Eur.* 18, 2565–2577.

39. Duan X., Yang J., Ren B., Tan G., Ding H. (2009) Reactivity of nitric oxide with the [4Fe-4S]_n cluster in dihydroxyacid dehydrogenase from *Escherichia coli*. *Biochem J.* 417, 783–789.

40. Wu C.R., Huang Y.D., Hong Y.H. et al. (2021) Endogenous conjugation of biomimetic dinitrosyl iron complex with protein vehicles for oral delivery of nitric oxide to brain and activation of hippocampal neurogenesis. *J. Amer. Chem. Soc.* Au 1, 998–1013.

41. Lepka K., Volbracht K., Bill E. et al. (2017) Iron-sulfur glutaredoxin 2 protects oligodendrocytes against damage induced by nitric oxide release from activated microglia. *Glia* 65, 1521–1534.

42. Malyshev I.Yu., Malugin A.V., Golubeva L.Yu. et al. (1996) Nitric oxide donor induces HSP70 accumulation in the heart and in cultured cells. *FEBS Lett.* 301, 21–23.

43. Wiegant F.A.C., Malyshev I.Y., Kleschyov A.L. et al. (1999) Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as inductor of heat shock protein synthesis in H35 hepatoma cells. *FEBS Lett.* 455, 179–182.

44. Велиев Е.И., Котов С.В., Шишло В.К. и др. (2008) Влияние динитрозильных комплексов железа с тиолсодержащими лигандами на состояние кавернозных тел пениса у крыс. *Биофизика* 53, 326–353.

45. Lee T-Y., Lu H-H., Cheng H-T. et al. (2023) Delivery of nitric oxide with pH-responsive nanocarrier for the treatment of renal fibrosis. *J. Controlled Release* 354, 417–429.

46. Kapel'ko V.I., Lakomkin V.L., Abramov A.A. et al. (2017) Protective effects of dinitrosyl iron complexes under oxidative stress in the heart. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2017, Article ID 9456163, 10 pages.

47. Dungal P., Peterling M., Weidinger A. et al. (2015) The cytoprotective effect of nitrite based on the formation of dinitrosyl iron complex formation. *Free Rad. Biol. Med.* 89, 300–310.
48. Voevodskaya N.V., Serezhenkov V.A., Cooper C.E. et al. (2002) Exogenous ferrous ion is required for the nitric oxide-catalyzed destruction of the iron-sulfur center in adrenodoxin. *Biochem J.* 368, 633–639.
49. Richardson D.R., Lok H.C. (2008) The nitric oxide-iron interplay in mammalian cells: transport and storage of dinitrosyl iron complexes *Biochim. Biophys. Acta* 1780, 638–651.
50. Писаренко О.И., Серебрякова Л.И., Цкитишвили О.В. и др. (2008) Кардиозащитное действие динитрозильных комплексов железа с цистеином у крыс *in vivo*. *Известия РАН, сер. Биология* 1, 110–114.
51. Vedernikov Y.P., Mordvintcev P.I., Malenkova I.V., Vanin A.F. (1992) Similarity between the vasorelaxing activity of dinitrosyl iron cysteine complexes and endothelium-derived relaxing factor *Eur. J. Pharmacol.* 211, 313–317.
52. Igrunkova A., Fayzullin A., Serejenkova N. et al. (2023) Beneficial effect of dinitrosyl iron complexes on wound healing compared to commercial nitric oxide plasma generator. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 4439–4457.
53. Ванин А.Ф., Абрамов А.А., Вагапов А.Б. и др. (2023). Почему вдыхание газообразного оксида азота не влияет на системное артериальное давление у человека и животных? *Биофизика* 68, 1259–1264.
54. Wolzt M., MacAllister R.J., Davis D. et al. (1999) Biochemical characterization of S-nitrosohemoglobin. Mechanisms underlying synthesis, NO release, and biological activity. *J. Biol. Chem.* 274, 28983–28990.
55. Zhang Y., Hogg N. (2004) S-nitrosohemoglobin: a biochemical perspective. *Free Rad. Biol. Med.* 36, 947–958.
56. Ascenzi P., diMesi A., Sciore A.C., Clementi E. (2010) Peroxynitrite – as ugly biofactor? *Biofactors* 36, 264–273.
57. Radi R. (2018) Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: redox pathways in molecular medicine. *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)* 115, 5839–5848.
58. Khan S., Kayahara M., Joashi U. et al. (1997) Differential induction of apoptosis in Swiss 3T3 by nitric oxide and the nitrosonium cation. *J. Cell Sci.* 110, 2315–2322.
59. Kleschyov A.L., Strand S., Schmitt S. et al. (2006) Dinitrosyl-iron triggers apoptosis in Jurkat cells despite overexpression of Bcl-2. *Free rad. Biol. Med.* 40, 1340–1348.
60. Vanin A.F., Tronov V.A., Borodulin R.R. (2021) Nitrosonium cation as a cytotoxic component of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands (based on the experimental work on MCF-7 human breast cancer cell culture) *Cell Biochem. Biophys.* 79, 93–102.
61. Ванин А.Ф., Телегина Д.И., Микоян В.Д. и др. (2022) Цитостатическое действие динитрозильных комплексов железа с глутатионом на клетки *Escherichia coli* определяется катионами нитрозония, высвобождающимися из этих комплексов. *Биофизика* 67, 938–946.
62. Шиповалов А.В., Ванин А.Ф., Пьянков О.В. и др. Противовирусная активность катионов нитрозония в отношении SARS-CoV-2 на модели сирийского хомячка. *Биофизика* 67, 969–981.
63. Williams D.L.H. Nitrosation Reactions and the Chemistry of Nitric Oxide. Amsterdam: Elsevier, 2004.
64. Печенкин Е.В., Коврижкин А.В., Пекшев А.В. и др. (2022) Высокодозовая ингаляция газообразного оксида азота в лечении COVID-19 *Биофизика* 67, 1251–1261.
65. Mingos D.M.P. (2014) Historical introduction to nitrosyl complexes. *Structure & Bonding* 153, 1–44.
66. Melia T.P. (1965) Decomposition of nitric oxide at elevated pressure. *J. Inorg. Nucl. Chem.* 27, 95–98.
67. Ванин А.Ф., Пекшев А.В., Печенкин Е.В. Терапевтическое действие высокодозовой ингаляции газообразного оксида азота на пост-ковидный синдром, диабет и ВИЧ-инфекцию. *Биофизика* 68, 142–149.

Информация об авторе

Ванин Анатолий Федорович – д. б. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории физической химии биополимеров ФГБУН «Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова» РАН; тел.: (985) 369-08-03; e-mail: vanin.dnic@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8392-4601>)