

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА С ТИОЛ-СОДЕРЖАЩИМИ ЛИГАНДАМИ КАК «РАБОЧАЯ ФОРМА» ОДНОГО ИЗ УНИВЕРСАЛЬНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ – МОНООКСИДА АЗОТА

Ванин А.Ф.

*Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова Российской Академии
Наук, Москва, Россия, e-mail: vanin.dnic@gmail.com*

В последние 25-30 лет было установлено, что практически во всех представителях живого мира – человеке и животных, растениях и бактериях непрерывно ферментативным путём из L-аргинина или нитрита вырабатывается простейшее соединение – монооксид азота (NO), функционирующее в живых системах в качестве одного из универсальных регуляторов разнообразных биологических процессов. В организме человека и животных NO участвует в качестве агента, вызывающего вазодилатацию, в работе сердечно-сосудистой системы. NO необходим также для функционирования центральной и вегетативной нервной системы, для работы желудочно-кишечного тракта, мочеполовой и эндокринной систем. Характерное для всех этих систем регуляторное действие NO обеспечивается функционированием конститутивных ферментов, катализирующих синтез NO – эндотелиальной и нейрональной NO синтаз (соответственно, e- и n-NOS). Стационарный уровень NO в тканях не превышает нескольких микромолей.

При повышении стационарного уровня NO до 100 микромолей и выше, достигаемом при работе индуцибельной NOS (iNOS) позитивное, регуляторное действие NO сменяется на его цитотоксическое действие, обеспечивающее функционирование NO в качестве одного из эффекторов системы клеточного иммунитета (и аутоиммунитета). Губительное действие NO на клетки-мишени в этом случае достигается разрушительным действием избытка этого агента на ряд ферментов (например, на железо-серные белки), а также образованием в клетках и тканях значительного количества пероксинитрита, возникающего при взаимодействии NO с анионами супероксида. Протонированная форма пероксинитрита распадается на двуокись азота и гидроксильные радикалы. Оба этих продукта, особенно гидроксильные радикалы, повреждающим обра-

зом действуют на внутриклеточные компоненты, что и приводит к гибели клеток и тканей.

Среди многих исследователей биологического действия NO до сих пор сохраняется предвзятое представление о том, что этот агент, продуцируемый NO-синтазами, перемещаясь внутри клеток и между ними, остаётся в свободной молекулярной форме. Между тем уже первые исследования на изолированных клетках и тканях показали, что в этих условиях NO, продуцируемый этими биосистемами, быстро (в течение нескольких секунд) погибает, превращаясь в упомянутой выше реакции с супероксидом в пероксинитрит. Выходом из этой ситуации может быть включение NO в эндогенно образующиеся S-нитрозотиолы или динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиол-содержащими лигандами, приводящее к резкому снижению скорости реакции NO в составе этих соединений с супероксидом. Тем самым достигается стабилизация этого агента и возможность его переноса к мишеням биологического действия, как ауто- так и паракринного характера.

ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами существуют в биосистемах в двух формах – в парамагнитной, ЭПР-активной моноядерной форме (М-ДНКЖ, формула $[(RS)_2Fe(NO)_2]$) и в диамагнитной, ЭПР-неактивной биядерной форме (Б-ДНКЖ, формула $[(RS)_2Fe_2(NO)_4]$). Первая форма впервые была обнаружена методом ЭПР мною совместно с Р.М. Налбандяном в дрожжевых клетках в 1963-64 гг по характерному для М-ДНКЖ сигналу ЭПР с $g_{ср.}=2,03$ (сигналу 2,03). В 1967 году аналогичный сигнал был зарегистрирован нами и в тканях животных. Этот результат явился первым свидетельством того, что в живых организмах может продуцироваться монооксида азота, необходимый для образования указанных выше ДНКЖ. В 90-е годы, когда было установлено, что в биосистемах, действительно, может ферментативным путём продуцироваться NO, М-ДНКЖ были зарегистрированы в культурах различных клеток человека и животных. Однако, несмотря на усиленную генерацию NO в тканях животных, например, при активации у них синтеза iNOS, М-ДНКЖ в этих тканях методом ЭПР не обнаруживались.

Причина этого несоответствия была понята нами только в последнее время. Оказалось, что в тканях животных, в отличие от клеточных культур, продуцируемый в них NO, по непонятным пока причинам *in vivo* предпочитает включаться не в ЭПР-активные М-ДНКЖ, а в их биядерные, ЭПР-неактивные аналоги – Б-ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами. Эти комплексы легко превращаются в парамагнитные, ЭПР-активные мононитрозильные комплексы железа (МНКЖ) с производными дитиокарбамата при введении последних в изолированные ткани жи-

вотных. В ходе этого превращения производные дитиокарбамата перехватывают железо и один нитрильный лиганд из железо-динитрозильных фрагментов в составе Б-ДНКЖ, что и приводит к формированию парамагнитных МНКЖ с производными дитиокарбамата (например, диэтилдитиокарбаматом), характеризующихся сигналом ЭПР с триплетной сверхтонкой структурой и средним значением g-фактора, равным 2,04. Поскольку на образование одного железо-динитрозильного фрагмента в Б-ДНКЖ уходит 3 молекулы NO, подсчёт количества МНКЖ, возникающих при взаимодействии дитиокарбаматов с Б-ДНКЖ, показывает, что в тканях животных в образовании последних участвует до 70% монооксида азота, генерируемого в этих тканях. Другими словами, основная часть этого агента в тканях животных идёт на образование Б-ДНКЖ (а не на образование других стабильных эндогенных производных монооксида азота – S-нитрозотиолов).

Этот результат перекликается с результатами экспериментов группы Д. Томаса в США, показавших, что в клеточных культурах животных и человека эндогенный и экзогенный монооксид азота в подавляющей своей части включается не в S-нитрозотиолы, а в парамагнитную форму ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами – М-ДНКЖ.

Таким образом есть основание полагать, что монооксид азота, появляющийся в клетках и тканях животных и человека функционирует как один из универсальных регуляторов разнообразных метаболических процессов, включаясь первоначально в состав ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами – их М- и Б-форм. В живых системах эти формы ДНКЖ могут быть представленными как белок-связанными М- и Б-ДНКЖ (депо ДНКЖ), так и их низкомолекулярными аналогами, способными переносить высвобождающиеся из них молекулы NO и ионы нитрозония (NO^+) на мишени их биологического действия, соответственно гем-содержащие и тиол-содержащие белки, чем и достигается биологическое действие ДНКЖ.

О высокой биологической активности низкомолекулярных ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами, имитирующей аналогичную активность системы эндогенного NO, свидетельствуют многочисленные результаты исследований нашей и других групп учёных. Показано, что М- и Б-ДНКЖ с глутатионом или цистеином характеризуются мощной вазодилаторной активностью, обеспечивающей их эффективное гипотензивное действие на животных и человека. Низкомолекулярные ДНКЖ подавляют агрегацию тромбоцитов и эритроцитов, соответственно ослабляя тем самым образование тромбов и улучшая микроциркуляцию. Эти комплексы способны резко ускорять заживление ран и эффективно вы-

зывать эрекцию пениса у животных. Наконец, показано, что ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами модулируют активность многих генов, например, ответственных за выработку антиоксидантной защиты. Во всех этих случаях ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами выступают в качестве агентов, оказывающих на организм животных и человека позитивное, регуляторное действие. Вместе с тем, как и система эндогенного NO, эти комплексы способны оказывать на быстро пролиферирующие ткани животных избирательное негативное, токсическое действие. Предполагается, что оно определяется разрушительным действием на ДНКЖ эндогенных хелаторов железа, продуцируемых быстро растущими тканями для обеспечения их железом. Быстрое разрушение ДНКЖ этими хелаторами приводит к появлению вблизи и внутри клеток этих тканей значительного количества свободного NO, превращение которого в реакции с супероксидом в цитотоксический пероксинитрит и приводит к гибели этих клеток. Не исключено, что именно этим путём ДНКЖ с глутатионом полностью подавляли развитие незлокачественных эндометриоидных опухолей у крыс с экспериментальным эндометриозом – эффект, наблюдавшийся нашей группой в последние годы. Интересно, что аналогичные эксперименты, проведённые нами на злокачественных опухолях показали, что ДНКЖ с глутатионом ослабляли развитие этих опухолей лишь на первых стадиях их роста: далее у опухолей вырабатывалась (как и у многих бактерий) защита от NO, обеспечивавшая быструю пролиферацию злокачественных опухолей в присутствии ДНКЖ.

Таким образом, ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами способны, как и система эндогенного NO, оказывать на организм животных и человека как позитивное, регуляторное, так и негативное, цитотоксическое действие. Учитывая тот факт, что обе эти активности обнаруживаются при низких, микромолярных дозах этих комплексов, а также принимая во внимание широкую распространённость этих комплексов в клетках и тканях животных (в форме М- или Б-ДНКЖ), есть основание рассматривать эти комплексы как «рабочую форму» системы эндогенного NO.

С более детальным изложением приведённого здесь материала можно ознакомиться в последних моих публикациях:

1. Anatoly F. Vanin “Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a “working form” of endogenous nitric oxide” (review) Nitric Oxide Biol Chem. – 2016. – Vol. 54. – P. 15-29.

2. Ванин А.Ф. «Динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами: физико-химия, биология, медицина» (монография) АНО «Ижевский институт компьютерных исследований» Ижевск (2015).