

## ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

УДК 577.151: 57.044

doi: 10.17223/19988591/31/10

А.Г. Соловьева<sup>1</sup>, С.П. Перетягин<sup>1</sup>, А.И. Дударь<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup> Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

### Каталитические свойства лактатдегидрогеназы в органах крыс с термической травмой при воздействии глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа

*Изучено влияние депонированной формы оксида азота, динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ), на активность лактатдегидрогеназы в печени, почках, сердце и легких крыс с комбинированной термической травмой. Эксперименты проведены на 45 белых крысах-самцах линии Wistar. Комбинированную термическую травму (контактный ожог на площади 20% поверхности тела и термоингаляционное воздействие) наносили под наркозом. Животным с ожогом ежедневно вводили внутривентрикулярно 10%-ный раствор ДНКЖ. В гомогенатах органов определяли активность лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях на 3-и и 10-е сутки после ожога. Полученные результаты показали, что введение крысам с термической травмой динитрозильных комплексов железа оказало положительное влияние на активность лактатдегидрогеназы в прямой реакции во всех исследуемых органах. Установлено, что комбинированная термическая травма приводит к снижению активности лактатдегидрогеназы в прямой реакции в легких, сердце, печени и почках на 3-и сутки после поражения и повышению активности лактатдегидрогеназы в обратной реакции на 10-е сутки в сердце, печени и почках, вызывая накопление молочной кислоты.*

**Ключевые слова:** лактатдегидрогеназа; ожог; динитрозильные комплексы железа.

### Введение

Термические поражения представляют серьезную медицинскую, социальную и экономическую проблему в современном обществе. Так, по данным ВОЗ, ежегодно за медицинской помощью с ожогами обращается примерно 6 млн человек [1]. При этом развивающаяся ожоговая болезнь сопровождается возникновением тканевой гипоксии и синдрома эндогенной интоксикации, накоплением в крови веществ низкой и средней молекулярной массы, особенно высокотоксичных альдегидов, нарушением метаболизма и энергетического обмена клеток, изменением активности ферментных

систем [2]. При ожоговой болезни возникает потребность в поддержании метаболических процессов на необходимом количественном и качественном уровне, модулировании их ответной реакции на ожоговую травму по силе и направленности для достижения оптимальной адаптации органов и физиологических систем к травме [1]. Ключевую роль в энергетическом обмене играет фермент лактатдегидрогеназа (ЛДГ, КФ 1.1.1.27), от активности которого зависит соотношение лактат / пируват и НАД / НАДН в клетках. Поэтому исследование каталитических свойств лактатдегидрогеназы и поиск путей коррекции нарушения ее активности при термической травме является актуальным.

В настоящее время в модуляции метаболических сдвигов большое внимание уделяется оксиду азота, обладающему регуляторными, антиоксидантными, детоксикационными, вазодилатирующими свойствами [3–5]. NO вызывает расслабление гладких мышц сосудов, участвует в защите от патогенов, является нейромедиатором, регулирует программируемую гибель и пролиферацию клеток, играет важную роль в секреторной и репродуктивной системе [6, 7]. Такое разнообразие эффектов оксида азота обусловлено образованием физиологически активных метаболитов NO и его взаимодействием с различными молекулярными мишенями [8, 9]. В течение многих лет в клинической практике применяют вводимые в организм экзогенно такие доноры монооксида азота, как широко известные лекарственные средства на основе органических нитратов, например нитроглицерин и его аналоги [10]. На сегодняшний день изучаются физиологические свойства и возможности применения других доноров NO, в частности, одной из физиологических форм транспорта и депонирования оксида азота, динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ), в состав которых входят нитрозильные и тиольные лиганды (глутатион, цистеин, тиосульфат) [6, 9, 11, 12].

Известно, что *in vivo* сера – нитрозильные комплексы железа существуют в двух формах: моноядерной  $[\text{Fe}(\text{SR})_2(\text{NO})_2]^-$  [13, 14] и биядерной  $[\text{Fe}_2(\text{SR})_2(\text{NO})_4]$  [14–17]. Между этими формами наблюдается динамическое равновесие, зависящее от концентрации тиолов в физиологических условиях [11, 12]. Квазистабильные парамагнитные динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами, находящиеся в растворе в ионной форме  $[\text{Fe}(\text{RS})_2\text{Fe}(\text{NO})_2]^-$ , могут формироваться по L-аргинин-зависимому пути и накапливаться в клетках животных [13]. Наряду с другой формой эндогенных соединений монооксида азота – S-нитрозотиолами – динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами могут выполнять функцию защиты NO в организме животных и человека от губительного действия на него анионов супероксида, что обеспечивает депонирование NO, а также его внутри- и межклеточный транспорт [6–7]. Вместе с тем динитрозильные комплексы железа как доноры NO способны воздействовать на разнообразные физиологические процессы, вызывая гипотензию, расслабление кровеносных сосудов, подавление тромбообразования и т.д.

[7, 18]. Показано, что стабильный динитрозильный комплекс железа с тиосульфатом, введенный внутривенно в организм, связывается с белковыми молекулами и присутствует в кровотоке в течение длительного времени (более двух суток) [19]. Таким образом, актуальным представляется исследование механизмов патологических процессов, происходящих в биологических системах с участием динитрозильных комплексов железа. При этом влияние депонированной формы оксида азота, ДНКЖ на каталитические свойства лактатдегидрогеназы при термической травме не изучено.

Цель данной работы – изучение влияния ДНКЖ на активность лактатдегидрогеназы в печени, почках, сердце и легких крыс с комбинированной термической травмой.

### Материалы и методики исследования

Эксперименты проведены на белых крысах-самцах линии Wistar, полученных из филиала «Столбовая» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (Филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, г. Москва). Все животные содержались в стандартных условиях вивария в клетках при свободном доступе к пище и воде на рационе питания согласно нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ». Условия работы с животными соответствовали правилам Европейской конвенции ET/S 129, 1986, и директивам 86/609 ESC [20]. После 14-дневной адаптации к условиям местного вивария и карантина из 45 крыс массой 200–250 г сформировали следующие группы: 1-я группа – контрольная (интактные здоровые животные,  $n = 15$ ); 2-я группа – животные с ожогом ( $n=15$ ), которым ежедневно внутривентрально вводили 1 мл физиологического раствора; 3-я группа – животные с ожогом, ежедневно получавшие лечение в виде внутривентральных инъекций 10%-ного раствора ДНКЖ (1 мл; 0,3 ммоль/л) ( $n = 15$ ). Динитрозильные комплексы железа с глутатионом получали по методике А.Ф. Ванина [21], смешивая 300 мМ  $\text{NaNO}_2$ , 200 мМ восстановленного глутатиона и раствор  $\text{FeSO}_4$ . Концентрацию ДНКЖ определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Power Wave XS (Bio-Tek, USA) в диапазоне длин волн 410–700 нм.

Комбинированную термическую травму (контактный ожог на площади 20% поверхности тела и термоингаляционное воздействие горячим воздухом и продуктами горения в течение 20–30 с в условиях камеры ингаляции) наносили под наркозом (Золетил (60 мг/кг) + Ксила (6 мг/кг)) [22]. Животных выводили из эксперимента путем декапитации с предварительной перерезкой сонной артерии под наркозом (Золетил + Ксила).

После декапитации крыс вскрывали брюшную полость, печень, почки, сердце и легкие быстро извлекали, отмывали от крови, многократно пер-

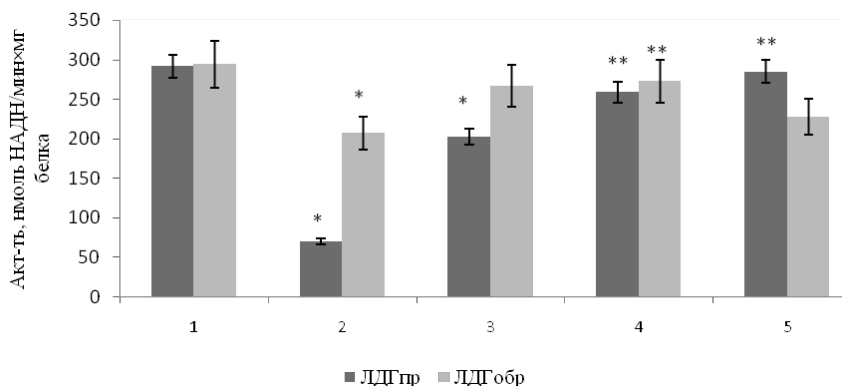
фузируя их охлажденным физиологическим раствором с помощью толстой иглы и шприца объем 10 мл. Промытые органы сразу помещали в стоящую на льду чашку Петри и измельчали ножницами. В стеклянном гомогенизаторе Поттера с тефлоновым пестиком готовили 10%-ный гомогенат тканей органа (печени, почки, сердца или легкого) на основе среды, содержащей 0,25 М раствор сахарозы, 1 мМ раствор ЭДТА, 0,01 М трис-НСl-буфер (рН = 7,5). Ткань гомогенизировали в течение 30–40 с. Для удаления не полностью разрушенных клеток и ядер гомогенат центрифугировали 10 мин при 1000 g на центрифуге Multifuge 1 SR ( $t = 0 + 2^{\circ}\text{C}$ ). Рыхлый осадок отбрасывали, для исследований использовали супернатант [23]. В гомогенатах печени, сердца, почек и лёгких оценивали активность ЛДГ. Активность лактатдегидрогеназы в прямой реакции (ЛДГпр) определяли с использованием в качестве субстрата молочной кислоты, в обратной реакции (ЛДГобр) – с использованием пировиноградной кислоты по Г.А. Кочетову [24]. Концентрацию белка определяли по методу Лоури в модификации [25]. Для выявления нарушений энергетического метаболизма в органах крыс рассчитывали коэффициент баланса энергетических реакций (КБЭР) :  $\text{КБЭР} = (\text{ЛДГпр}/\text{ЛДГобр}) / (\text{ЛДГобр}/\text{ЛДГпр}) \times 100$  [26].

Результаты исследований обрабатывали с использованием программы StatSoft STATISTICA 6.0, с помощью которой рассчитывались средняя арифметическая величина показателей и ошибка средней. Статистическая значимость различий между показателями определялась с помощью t-критерия Стьюдента ( $p < 0,05$ ).

### Результаты исследования и обсуждение

От особенностей регуляции ферментов зависят молекулярные механизмы действия различных фармакологических и биологически активных соединений. Несомненно, что ЛДГ играет важную роль в регуляции энергетического обмена клетки. В прямой реакции из лактата образуется пируват, который в последующем в аэробных условиях может использоваться в цикле Кребса. Обратная реакция ЛДГ приводит к образованию из пирувата лактата и характеризует степень выраженности анаэробного процесса в клетке [27]. Проведенные исследования показали, что удельная активность ЛДГпр в легких статистически значимо уменьшилась на 3-и сутки после термической травмы в 4,2 раза, на 10-е сутки после ожога – в 1,4 раза по сравнению с контролем (рис. 1). Понижение удельной активности ЛДГпр в легких при комбинированной термической травме способствует накоплению лактата. Уменьшение активности лактатдегидрогеназы в прямой реакции, вероятно, связано с преобладанием анаэробного обмена веществ вследствие возникновения тканевой гипоксии. При этом отмечена тенденция к снижению каталитических свойств лактатдегидрогеназы в обратной реакции в легких при ожоге. Снижение уровня активности ЛДГ приводит к различным на-

рушениям, так как на развилке путей метаболизма углеводов ЛДГ участвует в регуляции тонко сбалансированного катаболизма и анаболизма, анаэробного и аэробного гликолиза, а также образует единый функциональный надмолекулярный комплекс с некоторыми оксидоредуктазами, который оказывает существенное влияние на окислительно-восстановительный потенциал клетки, регулируя внутриклеточное соотношение НАД/НАДН [28].



**Рис. 1.** Удельная активность лактатдегидрогеназы в лёгких

(нмоль НАДН/мин×мг белка) при ожоге и на фоне введения ДНКЖ:

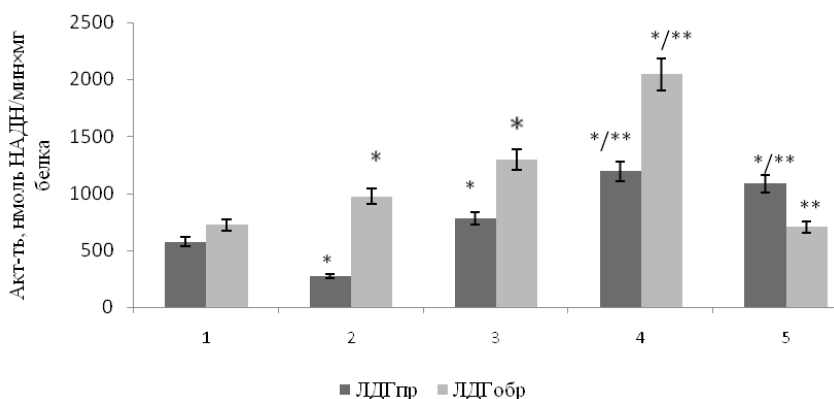
1 – контроль (n = 15); 2 – комбинированная термическая травма (КТТ), 3-и сутки (n = 8); 3 – КТТ, 10-е сутки (n = 7); 4 – КТТ + ДНКЖ, 3-и сутки (n = 8); 5 – КТТ + ДНКЖ, 10-е сутки (n = 7); \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05); \*\* – различия статистически значимы по сравнению с ожогом (p < 0,05)

[Fig. 1. Specific activity of lactate dehydrogenase in the lungs (nM NADH/min×mg of protein) for the burn and when introducing dinitrosyl iron complex (DNIC): 1 - control (n=15); 2 - combined thermal injury (CTI), 3<sup>rd</sup> day (n=8); 3 - CTI, 10<sup>th</sup> day (n=7); 4 - CTI + DNIC, 3<sup>rd</sup> day (n=8); 5 - CTI + DNIC, 10<sup>th</sup> day (n=7); \* - differences are statistically significant compared to the control group (p<0.05); \*\* - differences are statistically significant compared to the burn (p<0.05). On the ordinate axis - Activity, nM NADH/min×mg of protein; on the abscissa axis - Lactate dehydrogenase]

Введение крысам с комбинированной термической травмой 10%-ного раствора динитрозильных комплексов железа оказало нормализующее влияние на активность ЛДГпр в легких: показатели активности лактатдегидрогеназы в прямой реакции приблизились к показателям контрольной группы крыс. Показано, что удельная активность ЛДГпр в легких при воздействии ДНКЖ повысилась на 3-и сутки после травмы в 3,7 раза, на 10-е сутки – в 1,4 раза по сравнению с показателями крыс с ожогом без лечения. Выявлено, что под влиянием депонированной формы оксида азота активность ЛДГобр возросла в легких на 3-и сутки после травмы в 1,3 раза по сравнению с активностью крыс с термической травмой.

В сердце удельная активность лактатдегидрогеназы в прямой реакции статистически значимо снизилась на 3-и сутки после поражения в 2,1 раза

по сравнению со здоровыми крысами. На 10-е сутки после травмы выявлено компенсаторное повышение ЛДГпр в сердце в 1,4 раза по сравнению с контролем, при этом каталитическая активность ЛДГобр статистически значимо возросла на 3-и и 10-е сутки после ожога в 1,3 и 1,8 раза соответственно по сравнению со здоровыми крысами, способствуя накоплению лактата (рис. 2).

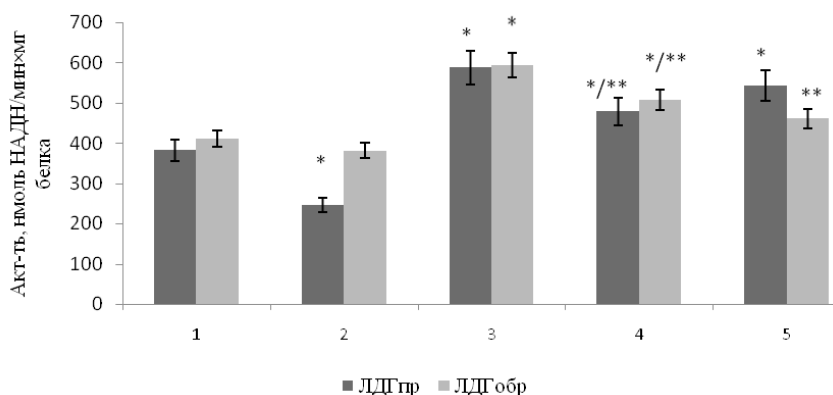


**Рис. 2.** Удельная активность лактатдегидрогеназы в сердце (нмоль НАДН/мин×мг белка) при ожоге и на фоне введения ДНКЖ: 1 – контроль (n = 15); 2 – КТТ, 3-и сутки (n = 8); 3 – КТТ, 10-е сутки (n = 7); 4 – КТТ + ДНКЖ, 3-и сутки (n = 8); 5 – КТТ + ДНКЖ, 10-е сутки (n = 7); \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05); \*\* – различия статистически значимы по сравнению с ожогом (p<0,05)

[Fig. 2. Specific activity of lactate dehydrogenase in the heart (nM NADH/min×mg of protein) for the burn and when introducing DNIC: 1 - control (n=15); 2 - CTI, 3<sup>rd</sup> day (n=8); 3 - CTI, 10<sup>th</sup> day (n=7); 4 - CTI + DNIC, 3<sup>rd</sup> day (n=8); 5 - CTI + DNIC, 10<sup>th</sup> day (n=7); \* - differences are statistically significant compared to the control group (p<0.05); \*\* - differences are statistically significant compared to the burn (p<0.05). On the ordinate axis - Activity, nM NADH/min×mg of protein; on the abscissa axis - Lactate dehydrogenase]

Показано, что в сердце удельная активность лактатдегидрогеназы в прямой реакции возросла под влиянием ДНКЖ на 3-и сутки в 4,3 раза, на 10-е сутки – в 1,4 раза после травмы по сравнению с животными с ожогом без лечения, статистически значимо превысив каталитическую активность ЛДГпр здоровых крыс в 2 раза на 3-и сутки и в 1,9 раза на 10-е сутки после поражения. Активность ЛДГобр в сердце под влиянием депонированной формы оксида азота увеличилась на 3-и сутки после ожога в 2,8 и 2,1 раза соответственно по сравнению со здоровыми крысами и крысами с ожогом без лечения. На 10-е сутки после термической травмы удельная активность ЛДГобр на фоне введения ДНКЖ статистически значимо уменьшилась в 1,8 раза по сравнению с показателем крыс с ожогом без лечения, приблизившись к показателям контрольных животных.

Полученные результаты показали, что в печени, как и в сердце, активность ЛДГпр статистически значимо снизилась на 3-и сутки после поражения в 1,6 раза и возросла на 10-е сутки после травмы в 1,5 раза по сравнению со здоровыми крысами (рис. 3). Отмечены тенденция к снижению удельной активности лактатдегидрогеназы в обратной реакции в печени на 3-и сутки после ожога и статистически значимое повышение активности ЛДГобр на 10-е сутки после поражения в 1,5 раза по сравнению с контрольными животными.



**Рис. 3.** Удельная активность лактатдегидрогеназы в печени (нмоль НАДН/мин×мг белка) при ожоге и на фоне введения ДНКЖ:

1 – контроль (n = 15); 2 – КТТ, 3-и сутки (n = 8); 3 – КТТ, 10-е сутки (n = 7); 4 – КТТ + ДНКЖ, 3-и сутки (n = 8); 5 – КТТ + ДНКЖ, 10-е сутки (n = 7); \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05); \*\* – различия статистически значимы по сравнению с ожогом (p<0,05)

[Fig. 3. Specific activity of lactate dehydrogenase in the liver (nM NADH/min×mg of protein) for the burn and when introducing DNIC: 1 - control (n=15); 2 - CTI, 3<sup>rd</sup> day (n=8);

3 - CTI, 10<sup>th</sup> day (n=7); 4 - CTI + DNIC, 3<sup>rd</sup> day (n=8); 5 - CTI + DNIC, 10<sup>th</sup> day (n=7); \* - differences are statistically significant compared to the control group (p<0.05);

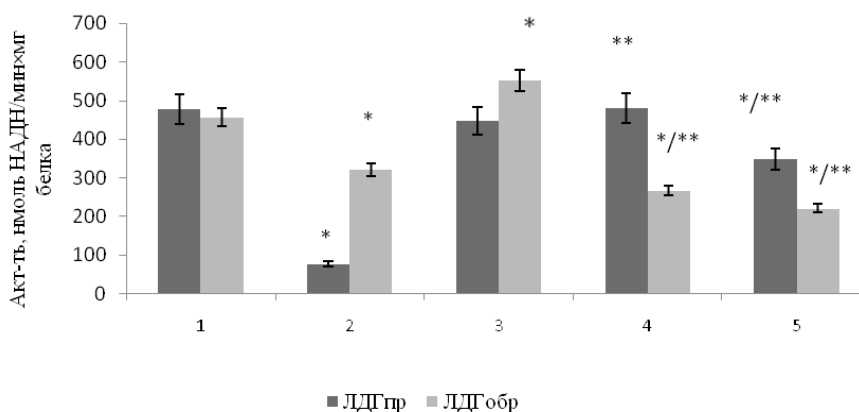
\*\* - differences are statistically significant compared to the burn (p<0.05). On the ordinate axis - Activity, nM NADH/min×mg of protein; on the abscissa axis - Lactate dehydrogenase]

В печени активность ЛДГпр под действием депонированной формы оксида азота увеличилась на 3-и сутки после ожога в 1,9 раза по сравнению с животными с термической травмой, превысив показатель каталитической активности ЛДГпр здоровых животных в 1,3 раза. Отмечена тенденция к снижению активности ЛДГпр в печени на 10-е сутки после ожога при воздействии ДНКЖ по сравнению с показателем активности крыс с термической травмой, активность ЛДГпр на данные сутки статистически значимо превышала показатель контрольных животных в 1,4 раза. На фоне введения ДНКЖ активность лактатдегидрогеназы в обратной реакции в печени на 3-и сутки после травмы снизилась в 1,3 раза по сравнению с активностью



фермента крыс с ожогом, но превышала активность ЛДГобр контрольных животных в 1,2 раза. На 10-е сутки после поражения активность ЛДГобр при воздействии ДНКЖ уменьшилась в 1,3 раза по сравнению с показателем крыс с термической травмой, приближаясь к показателю контрольных животных.

На 3-и сутки после ожога активность лактатдегидрогеназы в прямой реакции в почках статистически значимо уменьшилась в 6 раз по сравнению со здоровыми крысами (рис. 4). Каталитическая активность ЛДГобр в почках на 3-и сутки после ожога снизилась в 1,4 раза по сравнению с контрольными животными. Выявлено статистически значимое повышение удельной активности ЛДГобр на 10-е сутки после термической травмы не только в сердце и печени, но и почках в 1,2 раза по сравнению с контролем. Известно, что при ожогах возникает нарушение кислотно-щелочного равновесия путем его увеличения в щелочную сторону вследствие уменьшения легочной вентиляции и роста напряжения углекислого газа в крови [2]. Этим, вероятно, можно объяснить увеличение активности лактатдегидрогеназы в обратной реакции в исследуемых органах, поскольку изменение pH приводит к сдвигу равновесия лактатдегидрогеназной реакции в сторону образования лактата.



**Рис. 4.** Удельная активность лактатдегидрогеназы в почках (нмоль НАДН/мин\*мг белка) при ожоге и на фоне введения ДНКЖ:

1 – контроль (n = 15); 2 – КТТ, 3-и сутки (n = 8); 3 – КТТ, 10-е сутки (n = 7); 4 – КТТ + ДНКЖ, 3-и сутки (n = 8); 5 – КТТ + ДНКЖ, 10-е сутки (n = 7); \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05); \*\* – различия статистически значимы по сравнению с ожогом (p<0,05)

[Fig. 4. Specific activity of lactate dehydrogenase in the kidneys (nM NAD/min\*mg of protein) for the burn and when introducing DNIC: 1 - control (n=15); 2 - CTI, 3<sup>rd</sup> day (n=8); 3 - CTI, 10<sup>th</sup> day (n=7); 4 - CTI + DNIC, 3<sup>rd</sup> day (n=8); 5 - CTI + DNIC, 10<sup>th</sup> day (n=7); \* - differences are statistically significant compared to the control group (p<0.05); \*\* - differences are statistically significant compared to the burn (p<0.05). On the ordinate axis - Activity, nM NADH/min\*mg of protein; on the abscissa axis - Lactate dehydrogenase]



Под влиянием депонированной формы оксида азота в почках активность ЛДГпр увеличилась на 3-и сутки после ожога в 6,3 раза по сравнению с показателем животных с термической травмой, приблизившись к значению здоровых крыс. На 10-е сутки после поражения активность лактатдегидрогеназы в прямой реакции под воздействием динитрозильных комплексов железа в почках статистически значимо ниже показателя каталитической активности здоровых животных и крыс с ожогом в 1,4 и 1,3 раза соответственно.

В почках на фоне ведения ДНКЖ активность ЛДГобр статистически значимо уменьшилась на 3-и сутки в 1,2 раза, на 10-е сутки – в 2,5 раза по сравнению с активностью фермента крыс с термической травмой. При этом каталитическая активность лактатдегидрогеназы в обратной реакции в почках на 3-и и 10-е сутки после поражения под влиянием депонированной формы оксида азота оказалась ниже показателя здоровых крыс в 1,7 и 2,1 раза соответственно. Известно, что оксид азота является важным регулятором почечной гемодинамики и гломерулярной фильтрации, ингибирует транспорт натрия и увеличивает его экскрецию [11, 29]. Помимо этого, оксид азота, в частности динитрозильные комплексы железа, оказывает влияние и на другие клеточные компоненты: взаимодействует с тиоловыми группами на белках и молекулах, формируя S-нитрозотиолы; оксид азота может влиять на Fe/S-группы в каталитических центрах белков [30–33]. Лактатдегидрогеназа содержит реакционноспособные SH-группы, модификация которых приводит к потере активности [24, 29]. Согласно литературным данным, ДНКЖ практически не влияют на газовый состав крови и показатели кислотно-основного состояния организма [34].

При вычислении интегрального показателя, характеризующего динамику метаболизма, установлено, что КБЭР в органах у животных с ожогом ниже КБЭР здоровых крыс, что свидетельствует о существенном нарушении энергетического метаболизма при термической травме. Данный коэффициент оказался статистически значимо ниже на 3-и и 10-е сутки после травмы в легких (в 8,9 и 1,7 раза), сердце (в 7,9 и 1,9 раза), почках (в 21,0 и 1,7 раза), на 3-и сутки – в печени (в 2,0 раза) по сравнению с контрольной группой. Это способствует увеличению содержания молочной кислоты в органах, которая образуется преимущественно М-формой ЛДГ (ЛДГобр) (таблица).

Выявлено, что под воздействием ДНКЖ при термической травме коэффициент баланса энергетических реакций нормализовался на 3-и сутки после поражения в легких, сердце и печени. На 10-е сутки после ожога КБЭР оказался статистически значимо выше КБЭР здоровых крыс в легких в 1,6 раза, в сердце – в 3,8 раза, в печени – в 1,6 раза, в почках – в 2,3 раза, что может привести к повышению содержания пировиноградной кислоты, которая образуется преимущественно Н-ЛДГ-формой (ЛДГпр). Пируват в аэробных условиях быстро используется в биохимических реакциях различных тканей. Важная роль пировиноградной кислоты заключается в

конверсии пирувата в ацетил-коэнзим-А в митохондриях, который затем метаболизируется в цикле Кребса с последующим окислительным фосфорилированием с образованием основного универсального источника энергии – аденозинтрифосфата. Восстановление глюкозы из лактата является важным механизмом удаления лактата из системного кровотока после длительной тканевой гипоксии [27].

**Коэффициент баланса энергетических реакций в органах крыс с термической травмой на фоне введения динитрозильных комплексов железа**  
**[Balance ratio of energy reactions in the organs of rats with thermal injury when introducing dinitrosyl iron complexes]**

Орган [Organ]	Контроль [Control] (n = 15)	КТТ [CTI]		КТТ + ДНКЖ [CTI+DNIC]	
		3-и сутки [3 <sup>rd</sup> day] (n = 8)	10-е сутки [10 <sup>th</sup> day] (n = 7)	3-и сутки [3 <sup>rd</sup> day] (n = 8)	10-е сутки [10 <sup>th</sup> day] (n = 7)
Легкие [Lungs]	98,22 ±5,64	11,44 ±0,81*	57,42 ±1,22*	90,12 ±4,04**	157,14 ±5,61*/**
Сердце [Heart]	63,02 ±4,76	7,88 ±0,87*	35,97 ±0,73*	50,70 ±3,22**	237,29 ±7,08*/**
Печень [Liver]	86,34 ±3,03	41,99 ±1,76*	97,63 ±2,34*	88,88 ±4,66**	139,32 ±6,11*/**
Почки [Kidneys]	108,98 ±4,12	5,82 ±0,54*	62,27 ±1,56*	324,50 ±12,38*/**	250,16 ±11,89*/**

*Примечание.* \* – различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ );

\*\* – различия статистически значимы по сравнению с ожогом ( $p < 0,05$ ).

[Note. \* - differences are statistically significant compared to control ( $p < 0.05$ ); \*\* - differences are statistically significant compared to the burn ( $p < 0.05$ )].

Полученные результаты свидетельствуют, что введение крысам с комбинированной термической травмой динитрозильных комплексов железа оказало положительное влияние на активность ЛДГ во всех исследуемых органах. Под влиянием депонированной формы оксида азота происходит повышение энергообеспечения клеток метаболитами цикла трикарбоновых кислот и гексозодифосфатного пути окисления углеводов. Увеличение активности прямой реакции ЛДГ характерно для аэробных условий метаболизма эритроцитов. Повышение активности ЛДГ способствует уменьшению лактата и накоплению пирувата.

### Заключение

Таким образом, установлено положительное действие депонированной формы оксида азота (ДНКЖ) на активность лактатдегидрогеназы при комбинированной термической травме. При этом выявлено, что термическая травма в большей или меньшей степени затрагивает функционирование всех проанализированных нами органов и влияет на каталитические свойства ЛДГ. Изменение активности фермента связано с физиологическими, цитологическими и анатомическими нарушениями организма при ожоге,

такими как эндогенная интоксикация, полиорганная недостаточность, нарушение клеточных структур и гипоксия. Кроме того, регистрация сдвига активности ЛДГ может быть связана с изменением кинетических характеристик фермента вследствие его возможных конформационных перестроек. Показано, что комбинированная термическая травма приводит к снижению активности лактатдегидрогеназы в легких, сердце и почках, что вызывает накопление молочной и пировиноградной кислот, способствуя развитию гипоксии органов и тканей вследствие развития метаболического ацидоза. Изменение соотношения лактата и пирувата указывает на выраженное изменение промежуточного метаболизма клеток в анаэробных условиях. Динитрозильные комплексы железа способствуют нормализации соотношения продуктов и субстратов лактатдегидрогеназы, аллостерически регулируя активность фермента.

### Литература

1. Зиновьев Е.В. Эпидемиологические составляющие оценки результатов оказания медицинской помощи пострадавшим с обширными глубокими ожогами в лечебных учреждениях Ленинградской области // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2008. № 2. С. 744–746.
2. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги. СПб. : Спецлит, 2000. 488 с.
3. Рябов Г.А., Азизов Ю.М. Роль оксида азота как регулятора клеточных процессов при формировании полиорганной недостаточности // Анестезиология и реаниматология. 2001. № 1. С. 8–12.
4. Сосунов А.А. Оксид азота как межклеточный посредник // Соросовский образовательный журнал. 2000. № 12. С. 27–34.
5. Mokh V.P., Poltorakov A.P., Serezhnikov V.A., Vanin A.F. On the nature of a compound formed from dinitrosyl-iron complexes with cysteine and responsible for a long-lasting vasorelaxation // Nitric Oxide. 2010. Vol. 22, № 4. P. 266–274.
6. Lok H.C., Sahni S., Richardson V., Kalinowski D.S., Kovacevic Z., Lane D.J., Richardson D.R. Glutathione S-transferase and MRP1 form an integrated system involved in the storage and transport of dinitrosyl-dithiolato iron complexes in cells // Free Radic Biol Med. 2014. Vol. 75. P. 14–29.
7. Richardson D.R., Lok H.C. The nitric oxide-iron interplay in mammalian cells: transport and storage of dinitrosyl iron complexes // Biochim Biophys Acta. 2008. Vol. 1780, № 4. P. 638–651.
8. Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S., Flores-Santana W., Switzer C.H., Donzelli S., Hussain P., Vecoli C., Paolocci N., Ambs S., Colton C.A., Harris C.C., Roberts D.D., Wink D.A. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling // Free Radic Biol Med. 2008. Vol. 45, № 1. P. 18–31.
9. Chiang C.Y., Darenbourg M.Y. Iron nitrosyl complexes as models for biological nitric oxide transfer reagents // J. Biol. Inorg. Chem. 2006. Vol. 11, № 3. P. 359–370.
10. Ueno T., Yoshimura T. The physiological activity and in vivo distribution of dinitrosyl dithiolato iron complex // Jpn. J. Pharmacol. 2000. Vol. 82, № 2. P. 95–101.
11. Lewandowska H., Brzóška K., Meczyńska-Wielgosz S., Rumianek K., Wójciuk G., Kruszewski M. Dinitrosyl iron complexes--structure and biological functions // Postepy Biochem. 2010. Vol. 56, № 3. P. 298–304.

12. Lewandowska H., Kalinowska M., Brzóska K., Wójciuk K., Wójciuk G., Kruszewski M. Nitrosyl iron complexes--synthesis, structure and biology // Dalton Trans. 2011. Vol. 40, № 33. P. 8273–8289.
13. Fujikawa M., Kobayashi K., Kozawa T. Mechanistic studies on formation of the dinitrosyl iron complex of the [2Fe-2S] cluster of SoxR protein // J. Biochem. 2014. Vol. 156, № 3. P. 163–172.
14. Lu T.T., Lai S.H., Li Y.W., Hsu I.J., Jang L.Y., Lee J.F., Chen I.C., Liaw W.F. Discrimination of mononuclear and dinuclear dinitrosyl iron complexes (DNICs) by S K-edge X-ray absorption spectroscopy: insight into the electronic structure and reactivity of DNICs // Inorg. Chem. 2011. Vol. 50, № 12. P. 5396–5406.
15. Tsai F.T., Lee Y.C., Chiang M.H., Liaw W.F. Nitrate-to-nitrite-to-nitric oxide conversion modulated by nitrate-containing {Fe(NO)<sub>2</sub>}<sub>9</sub> dinitrosyl iron complex (DNIC) // Inorg. Chem. 2013. Vol. 52. 1. P. 464–473.
16. Butler A.R., Megson I.L. Non-heme iron nitrosyls in biology // Chem. Rev. 2002. Vol. 102, № 4. P. 1155–1166.
17. Lo F.C., Li Y.W., Hsu I.J., Chen C.H., Liaw W.F. Insight into the reactivity and electronic structure of dinuclear dinitrosyl iron complexes // Inorg. Chem. 2014. Vol. 53, № 20. P. 10881–10892.
18. Harrop T.C., Song D., Lippard S.J. Reactivity pathways for nitric oxide and nitrosonium with iron complexes in biologically relevant sulfur coordination spheres // J. Inorg. Biochem. 2007. Vol. 101, № 11–12. P. 1730–1738.
19. Тимошин А.А., Орлова Ц.Р., Ванин А.Ф., Санина Н.А., Рууге Э.К., Алдошин С.М., Чазов Е.И. Динитрозильные комплексы железа – новый тип гипотензивных препаратов // Российский химический журнал. 2007. Т. 51, № 1. С. 88–92.
20. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях : учеб. пособие / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М. : Профиль-2С, 2010. 358 с.
21. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа и S-нитрозотиолы – две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота (обзор) // Биохимия. 1998. Т. 63, № 7. С. 924–938.
22. Воробьев А.В., Перетягин С.П., Размахов А.М., Мартусевич А.К., Вазина И.Р., Квицинская Н.А., Лузан А.С., Стручков А.А. Способ моделирования комбинированной ожоговой травмы. Патент 2408081 РФ, МПК G09B 23/28. Заявка № 2009120239/14, 27.05.2009; Оpubл. 27.12.2010, Бюл. № 36.
23. Ещенко Н.Д. Выделение митохондриальной и цитоплазматической фракций тканей для анализа активности ферментов // Методы биохимических исследований. Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. С. 29–33.
24. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М. : Высшая школа, 1980. 272 с.
25. Dawson J.M., Heatlic P.L. Lowry method of protein quantification Evidence for Photosensitivity // Analytical Biochemistry. 1984. Vol. 140, № 2. P. 391–393.
26. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. Новый способ оценки динамики метаболизма крови у больных с термической травмой // Современные технологии в медицине. 2012. № 2. С. 116–117.
27. Плакунов В.К. Основы энзимологии. М. : Логос, 2001. 128 с.
28. Зимин Ю.В., Березов Т.Т., Сяткин С.П. Надмолекулярная регуляция активности некоторых оксидоредуктаз клетки в норме и патологии // Вопросы медицинской химии. 2001. Т. 47, № 3. С. 247–287.
29. Butler A.R., Flitney F.W., Williams D.L. NO, nitrosonium ions, nitroxide ions, nitrosothiols and iron-nitrosyls in biology: a chemist's perspective // Trends Pharmacol Sci. 1995. Vol. 16, № 1. P. 18–22.

30. Шумаев К.Б., Губкин А.А., Губкина С.А., Гудков Л.Л., Лакомкин В.Л., Топунов А.Ф., Ванин А.Ф., Рууге Э.К. Взаимодействие связанных с альбумином динитрозильных комплексов железа и активных форм кислорода // Биофизика. 2007. Т. 52, № 3. С. 534–538.
31. Санина Н.А., Алдошин С.М. Синтез, строение и свойства моделей нитрозильных  $[2\text{Fe}-2\text{S}]$ ,  $[1\text{Fe}-2\text{S}]$  протеинов и перспективы применения их в биологии и медицине // Российский химический журнал. 2004. Т. 48, № 4. С. 12–19.
32. Shumaev K.B., Gubkin A.A., Serezhnikov V.A., Lobysheva I.I., Kosmachevskaya O.V., Ruuge E.K., Lankin V.Z., Topunov A.F., Vanin A.F. Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin – and hemoglobin bound dinitrosyl iron complexes // Nitric Oxide. 2008. Vol. 18. P. 37–46.
33. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A., Vanin A.F., Topunov A.F. Globins and other nitric oxide-reactive proteins. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress // Methods in Enzymology. 2008. Vol. 436. P. 441–457.
34. Селиванов Е.А., Ремизова М.И., Гербут К.А., Бургова Е.Н., Ванин А.Ф. Влияние динитрозильного комплекса железа с глутатионом на течение геморрагического шока при его инфузионной терапии // Медицинский академический журнал. 2012. Т. 12, № 2. С. 84–89.

Поступила в редакцию 04.02.2015 г.; 08.04.2015 г.; 15.07.2015 г.

**Авторский коллектив:**

**Соловьева Анна Геннадьевна** – канд. биол. наук, с.н.с. отделения экспериментальной медицины ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России (г. Нижний Новгород, Россия).

E-mail: sannag5@mail.ru

**Перetyагин Сергей Петрович** – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения экспериментальной медицины ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России (г. Нижний Новгород, Россия).

E-mail: psp\_aro@mail.ru

**Дударь Анна Ивановна** – студентка биологического факультета ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», кафедра физиологии и биохимии человека и животных (г. Нижний Новгород, Россия).

E-mail: aid-queen@rambler.ru

Soloveva AG, Peretyagin SP, Dudar AI. Catalytic properties of lactate dehydrogenase in the organs of rats with thermal injury under the influence of glutathione-containing dinitrosyl iron complexes. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;3(31):130-145. doi: 10.17223/19988591/31/10. In Russian, English summary

**Anna G. Soloveva<sup>1</sup>, Sergey P. Peretyagin<sup>1</sup>, Anna I. Dudar<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Volga Federal Medical Research Center, Nizhny Novgorod, Russian Federation

<sup>2</sup>Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

## **Catalytic properties of lactate dehydrogenase in the organs of rats with thermal injury under the influence of glutathione-containing dinitrosyl iron complexes**

In this work we studied the activity of lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27) in the liver, kidneys, heart and lungs of rats with combined thermal injury under the influence of deposited forms of nitric oxide and dinitrosyl iron complexes (DNIC). We conducted the experiments on 45 white Wistar rats. Combined thermal injury (contact burns on 20% of the body surface and thermoinhalation of hot air and combustion products

within 20-30 seconds under the condition of the camera inhalation) was applied under anesthesia. Daily, we introduced 10% solution of dinitrosyl iron complexes to the animals with burn intraperitoneally. The activity of lactate dehydrogenase was determined in homogenates of organs in direct and reverse reactions on the 3<sup>rd</sup> and 10<sup>th</sup> days after burn. The results showed that the introduction of dinitrosyl iron complexes to the rats with thermal injury had a positive effect on the activity of lactate dehydrogenase in direct reaction in all studied organs. We established that the burn leads to a decrease in lactate dehydrogenase activity in direct reaction in the lungs, heart, liver and kidneys on the 3<sup>rd</sup> day after injury and an increase in lactate dehydrogenase activity in reverse reaction for the 10<sup>th</sup> day in the heart, liver and kidneys, causing accumulation of lactic acid.

*The article contains 4 Figures, 1 Table, 34 References.*

**Key words:** lactate dehydrogenase; burn; dinitrosyl iron complexes.

### References

1. Zinov'ev EV. Epidemiologicheskie sostavlyayushchie otsenki rezul'tatov okazaniya meditsinskoj pomoshchi postradavshim s obshirnymi glubokimi ozhogami v lechebnykh uchrezhdeniyakh Leningradskoy oblasti [Epidemiological components of the evaluation of medical care for victims with extensive deep burns in hospitals of Leningrad region]. *Vestnik Rossiiskoi Voenno-meditsinskoi akademii*. 2008;2:744-746. In Russian
2. Paramonov BA, Porembskiy YaO, Yablonskiy VG. Ozhogi [Burns]. St. Petersburg: Spetslit Publ.; 2000. 488 p. In Russian
3. Ryabov GA, Azizov YuM. Rol' oksida azota kak regulatora kletochnykh protsessov pri formirovanii poliorgannoy nedostatochnosti [Role of nitric oxide as a regulator of cellular processes in the formation of multiple organ failure]. *Anesteziologiya i reanimatologiya – Russian Journal of Anaesthesiology*. 2001;1:8-12. In Russian, English summary
4. Sosunov AA. Oksid azota kak mezhkletochnyy posrednik [Nitric oxide as an intercellular mediator]. *Sorosovskiy obrazovatel'nyy zhurnal*. 2000;12:27-34. In Russian
5. Mokh VP, Poltorakov AP, Serezhnikov VA, Vanin AF. On the nature of a compound formed from dinitrosyl-iron complexes with cysteine and responsible for a long-lasting vasorelaxation. *Nitric Oxide*. 2010;22(4):266-274. doi: [10.1016/j.niox](https://doi.org/10.1016/j.niox)
6. Lok HC, Sahni S, Richardson V, Kalinowski DS, Kovacevic Z, Lane DJ, Richardson DR. Glutathione S-transferase and MRP1 form an integrated system involved in the storage and transport of dinitrosyl-dithiolato iron complexes in cells. *Free Radic Biol Med*. 2014;75:14-29. doi: [10.1016/j.freeradbiomed](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed)
7. Richardson DR, Lok HC. The nitric oxide-iron interplay in mammalian cells: transport and storage of dinitrosyl iron complexes. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1780(4):638-651. doi: [10.1016/j.bbagen](https://doi.org/10.1016/j.bbagen)
8. Thomas DD, Ridnour LA, Isenberg JS, Flores-Santana W, Switzer CH, Donzelli S, Hussain P, Vecoli C, Paolocci N, Ambs S, Colton CA, Harris CC, Roberts DD, Wink DA. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. *Free Radic Biol Med*. 2008;45(1):18-31. doi: [10.1016/j.freeradbiomed](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed)
9. Chiang CY, Darensbourg MY. Iron nitrosyl complexes as models for biological nitric oxide transfer reagents. *J Biol Inorg Chem*. 2006;11(3):359-370.
10. Ueno T, Yoshimura T. The physiological activity and in vivo distribution of dinitrosyl dithiolato iron complex. *Jpn J Pharmacol*. 2000;82(2):95-101.
11. Lewandowska H, Brzóška K, Meczyńska-Wielgosz S, Rumianek K, Wójciuk G, Kruszewski M. Dinitrosyl iron complexes--structure and biological functions. *Postepy Biochem*. 2010;56(3):298-304.
12. Lewandowska H, Kalinowska M, Brzóška K, Wójciuk K, Wójciuk G, Kruszewski M. Nitrosyl iron complexes--synthesis, structure and biology. *Dalton Trans*. 2011;40(33):8273-8289. doi: [10.1039/c0dt01244k](https://doi.org/10.1039/c0dt01244k)



13. Fujikawa M, Kobayashi K, Kozawa T. Mechanistic studies on formation of the dinitrosyl iron complex of the [2Fe-2S] cluster of SoxR protein. *J Biochem.* 2014;156(3):163-172. doi: [10.1093/jb/mvu029](https://doi.org/10.1093/jb/mvu029)
14. Lu TT, Lai SH, Li YW, Hsu IJ, Jang LY, Lee JF, Chen IC, Liaw WF. Discrimination of mononuclear and dinuclear dinitrosyl iron complexes (DNICs) by S K-edge X-ray absorption spectroscopy: insight into the electronic structure and reactivity of DNICs. *Inorg Chem.* 2011;50(12):5396-5406. doi: [10.1021/ic102108b](https://doi.org/10.1021/ic102108b)
15. Tsai FT, Lee YC, Chiang MH, Liaw WF. Nitrate-to-nitrite-to-nitric oxide conversion modulated by nitrate-containing {Fe(NO)<sub>2</sub>}<sub>9</sub> dinitrosyl iron complex (DNIC). *Inorg Chem.* 2013;52(1):464-473. doi: [10.1021/ic3023437](https://doi.org/10.1021/ic3023437)
16. Butler AR, Megson IL. Non-heme iron nitrosyls in biology. *Chem Rev.* 2002;102(4):1155-1166.
17. Lo FC, Li YW, Hsu IJ, Chen CH, Liaw WF. Insight into the reactivity and electronic structure of dinuclear dinitrosyl iron complexes. *Inorg Chem.* 2014;53(20):10881-10892. doi: [10.1021/ic501055w](https://doi.org/10.1021/ic501055w)
17. Harrop TC, Song D, Lippard SJ. Reactivity pathways for nitric oxide and nitrosonium with iron complexes in biologically relevant sulfur coordination spheres. *J Inorg Biochem.* 2007;101(11):1730-1738.
18. Timoshin AA, Orlova TsR, Vanin AF, Sanina NA, Ruuge EK, Aldoshin SM, Chazov EI. Dinitrozil'nye komplekсы zheleza – novyy tip gipotenzivnykh preparatov [Dinitrozy iron complexes as a new type of antihypertensive drugs]. *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal.* 2007;51(1):88-92. In Russian
19. Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh: ucheb. posobie [A guide to laboratory animals and alternative models in biomedical research: study guide]. Karkishchenko NN, Gracheva SV, editor. Moscow: Profil'-2S Publ.; 2010. 358 p. In Russian
20. Vanin AF. Dinitrosyl iron complexes and S-nitrosothiols are two possible forms for stabilization and transport of nitric oxide in biological systems. *Biochemistry (Moscow).* 1998;63(7):782-793. In Russian, English summary
21. Vorob'ev AV, Peretyagin SP, Razmakhov AM, Martusevich AK, Vazina IR, Kvitsinskaya NA, Luzan AS, Struchkov AA. Sposob modelirovaniya kombinirovannoy ozhogovoy travmy [The method of simulation of combined burn injury]. Patent 2408081 RF, MPK G09B 23/28. Published 27.12.2010, Byulleten' 36.
22. Eshchenko ND. Vydelenie mitokhondrial'noy i tsitoplazmicheskoy fraktsiy tkaney dlya analiza aktivnosti fermentov [The allocation of mitochondrial and cytoplasmic fractions of tissues for analysis of enzyme activity]. In: *Metody biokhichicheskikh issledovaniy* [Methods of biochemical research]. Leningrad: Izdatel'stvo Leningradskogo universiteta; 1982. p. 29-33. In Russian
23. Kochetov GA. Prakticheskoe rukovodstvo po enzimologii [A practical guide to enzymology]. Moscow: Vysshaya Shkola Publ.; 1980. 272 p. In Russian
24. Dawson JM, Heatlic PL. Lowry method of protein quantification Evidence for Photosensitivity. *Analytical Biochemistry.* 1984;140(2):391-393.
25. Solovyova AG, Zimin YuV. A New Estimation Method of Blood Metabolism Dynamics of Patients with Heat Injuries. *Modern Technologies in Medicine.* 2012;2:116-117. In Russian, English summary
26. Plakunov VK. Osnovy enzimologii [Fundamentals of Enzymology]. Moscow: Logos Publ.; 2001. 128 p. In Russian
27. Zimin YuV, Berezov TT, Syatkin SP. Nadmolekulyarnaya regulyatsiya aktivnosti nekotorykh oksidoreduktaz kletki v norme i patologii [Supramolecular regulation of the activity of some oxidoreductases in the norm and pathology]. *Voprosy meditsinskoy khimii.* 2001;47(3):247-287. In Russian



28. Butler AR, Flitney FW, Williams DL. NO, nitrosonium ions, nitroxide ions, nitrosothiols and iron-nitrosyls in biology: a chemist's perspective. *Trends Pharmacol Sci*. 1995;16(1):18-22.
29. Shumaev KB, Gubkin AA, Gubkina SA, Gudkov LL, Lakomkin VL, Topunov AF, Vanin AF, Ruuge EK. Interaction between albumin-bound dinitrosyl iron complexes and reactive oxygen species. *Biofizika*. 2007;52(3):534-538. In Russian, English summary
30. Sanina NA, Aldoshin SM. Sintez, stroenie i svoystva modeley nitrozil'nykh [2Fe-2S], [1Fe-2S] proteinov i perspektivy primeneniya ikh v biologii imeditsine [Synthesis, structure and properties of models nitrosyl [2Fe-2S], [1Fe-2S] proteins and prospects of their application in biology and medicine]. *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal*. 2004;48(4):12-19. In Russian
31. Shumaev KB, Gubkin AA, Serezhnikov VA, Lobysheva II, Kosmachevskaya OV, Ruuge EK, Lankin VZ, Topunov AF, Vanin AF. Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin – and hemoglobin bound dinitrosyl iron complexes. *Nitric Oxide*. 2008;18:37-46.
32. Shumaev KB, Kosmachevskaya OV, Timoshin AA, Vanin AF, Topunov AF. Globins and other nitric oxide-reactive proteins. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress. *Methods in Enzymology*. 2008;436:441-457. doi: [10.1016/S0076-6879\(08\)36025-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(08)36025-X)
33. Selivanov EA, Remizova MI, Gerbout KA, Burgova EN, Vanin AF. Effect of dinitrosyl iron complex with glutathione on hemorrhagic shock followed by saline treatment. *Medical Academic Journal*. 2012;12(2):84-89. In Russian, English summary.

Received 4 February 2015;

Revised 8 April 2015;

Accepted 15 July 2015

**Author info:**

**Soloveva Anna G**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Privolzhsky Federal Research Medical Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 18 Verkhne-Volzhskaya Naberezhnaya, Nizhny Novgorod 603155, Russian Federation. E-mail: [sannag5@mail.ru](mailto:sannag5@mail.ru)

**Peretyagin Sergey P**, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Privolzhsky Federal Research Medical Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 18 Verkhne-Volzhskaya Naberezhnaya, Nizhny Novgorod 603155, Russian Federation. E-mail: [psp\\_aro@mail.ru](mailto:psp_aro@mail.ru)

**Dudar Anna I**, Student, Biological Faculty of Federal State Budgetary Educational Institution “N.I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod”, Department of physiology and biochemistry of humans and animals, 23 Gagarina Pr., Nizhny Novgorod 603950, Russian Federation.

E-mail: [aid-queen@rambler.ru](mailto:aid-queen@rambler.ru)