

## ВЫСОКОДОЗОВАЯ ИНГАЛЯЦИЯ ГАЗООБРАЗНОГО ОКСИДА АЗОТА В ЛЕЧЕНИИ COVID-19

© 2022 г. Е.В. Печёнкин\*, А.В. Коврижкин\*\*, А.В. Пекшев\*\*\*, А.Б. Вагапов\*\*\*,  
Н.А. Шарапов\*\*\*, А.Ф. Ванин\*\*\*\*, #

\*Ставропольский государственный медицинский университет, ул. Мира, 310, Ставрополь, 355017, Россия

\*\*Городская клиническая больница № 3, ул. Ленина, 417, Ставрополь, 355029, Россия

\*\*\*Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана,

2-я Бауманская ул., 5/1, Москва, 105005, Россия

\*\*\*\*Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН,  
ул. Косыгина, 4, Москва, 119334, Россия

#E-mail: vanin.dnic@gmail.com

Поступила в редакцию 30.09.2022 г.

После доработки 30.09.2022 г.

Принята к публикации 05.10.2022 г.

Предложен и технически реализован метод лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19 у больных, находящихся на высокопоточной оксигенации – метод высокодозовой ингаляции газообразного оксида азота (NO) при спонтанном дыхании пациента. Приведены результаты лечения этого заболевания, демонстрирующие высокую эффективность нового метода. Обсуждается возможный механизм блокирующего действия высоких доз ингаляционного оксида азота на репликацию вируса SARS-CoV-2 – образование в дыхательных путях и легких больных COVID-19 динитрозильных комплексов железа с тиолсодержащими лигандами, выступающими в живом организме донорами NO и катионов нитрозония  $\text{NO}^+$ , оказывающих цитотоксическое действие на вирус SARS-CoV-2.

*Ключевые слова:* оксид азота, ингаляция, динитрозильные комплексы железа, COVID-19, SARS-CoV-2, «ПЛАЗОН».

DOI: 10.31857/S0006302922060230, EDN: LMGLQQ

Предложение о возможности использования газообразного оксида азота (NO) для лечения COVID-19 путем ингаляционного введения в дыхательную систему пациента при его спонтанном дыхании появилось практически сразу после начала пандемии [1].

Предполагаемые механизмы действия ингаляционного NO при лечении COVID-19 следующие: дезактивация важнейших белков вируса SARS-CoV-2, необходимых для его репликации, путем S-нитрозирования в нем функционально важных тиоловых групп [1, 2]; активация Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, НК-клеток и макрофагов, ответственных за функционирование системы клеточного иммунитета [3], особенно у пожилых пациентов при возрастном уменьшении у них продукции эндотелиального оксида азота [4], а

также снижение вероятности тромбоза вследствие блокирующего действия оксида азота на агрегацию тромбоцитов.

В работах [5, 6] были представлены данные по лечению больных COVID-19 при их спонтанном дыхании путем ингаляции воздушной смеси, содержащей 160 ppm оксида азота, в течении 30 мин два раза в день. Весьма скромные результаты такого лечения, полученные в США, могут быть объяснены данными наших исследований процессов ингаляции газообразного оксида азота добровольцами при содержании NO во вдыхаемом воздухе в диапазоне от 100 до 2100 ppm, представленными в работе [2]. В этой работе показано, что при содержании NO во вдыхаемом воздухе менее 200 ppm подавляющая часть газообразного оксида азота поступает через легкие в кровь и связывается с гемоглобином, вследствие чего оставшейся части NO недостаточно для оказания лечебного воздействия. Исходя из результатов работы [2], мы полагаем, что для по-

*Сокращения:* NO-СГП – NO-содержащий газовый поток, СРБ – С-реактивный белок, ДНКЖ – динитрозильные комплексы железа, М-ДНКЖ – моноядерные динитрозильные комплексы железа.



Рис. 1. Аппарат «ПЛАЗОН».

лучения выраженного лечебного эффекта содержание оксида азота во вдыхаемом воздухе должно быть на уровне  $\sim 1000$  ppm, при этом половина оксида азота, поглощенного организмом, поступит через легкие в кровь и свяжется с гемоглобином, а половина останется в дыхательной системе. Такого же мнения придерживается нобелевский лауреат, профессор Л. Игнаро (L.J. Ignarro), считающий, что содержание оксида азота в NO-содержащем газовом потоке (NO-СГП) в области ингаляции должно быть по крайней мере в 100 раз больше, чем содержание NO в известных ингаляционных газобаллонных системах ( $\sim 10$  ppm), т.е. находиться на уровне  $\sim 1000$  ppm [1].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Техническое обеспечение.** В работе был использован аппарат «Скальпель-коагулятор-стимулятор воздушно-плазменный СКВП/NO-01 «ПЛАЗОН»» (ТУ 9444-001-96571701-2007, произведен в 2012 г. ООО «ЦВТМ при МГТУ имени Н.Э. Баумана» (Москва, Россия), регистрационное удостоверение № ФСР 2007/00583 от 21 марта 2012 г.) (рис. 1).

Аппарат «ПЛАЗОН» является единственным в мире аппаратом, реализующим способ лечения различных заболеваний воздушным потоком, содержащим оксид азота, получаемый плазмохимическим методом из атмосферного воздуха (метод NO-терапии).

Основное применение аппарата — лечение раневой патологии различного генеза, ускоряющее заживление ран, в том числе длительно незаживающих — послеоперационных, травматических, гнойных, ожоговых, трофических язв, синдрома диабетической стопы, пролежней и пр., а также лечение эрозивно-язвенных и воспалительных заболеваний внутренних полых органов (желудок, кишечник, легкие) путем подачи оксида азота на область патологии через эндоскопические приборы.

Для возможного использования аппарата «ПЛАЗОН» для лечения больных COVID-19 был разработан специальный манипулятор — генератор оксида азота, обеспечивающий безопасную высокодозовую ингаляцию NO при спонтанном дыхании пациента.

При разработке манипулятора для ингаляционной NO-терапии нами был широко использован опыт, полученный при разработке и применении для выполнения экспериментальных медико-биологических исследований плазмохимических генераторов оксида азота, представленный в работах [7, 8], а также данные, полученные при ингаляции здоровых добровольцев NO-содержащим газовым потоком [2].

Для реализации эффективной и безопасной лечебной технологии ингаляционного введения оксида азота в респираторную систему при спонтанном дыхании были сформулированы следующие основные требования:

1. Для комфорта пациентов и возможности обслуживать одним устройством последовательно их большое количество время ингаляции не должно превышать 10 мин.

2. Содержание оксида азота в NO-содержащем газовом потоке в области ингаляции должно находиться на уровне не менее  $\sim 1000$  ppm.

3. Максимальное количество оксида азота NO, поступающего в дыхательную систему при ингаляции, в соответствии с рекомендациями [9], не должно превышать (в усл. ед.)  $12000$  ppm·мин (допустимая доза  $25$  ppm в течение 8 ч).

4. Максимальное количество двуокиси азота  $\text{NO}_2$ , поступающего в дыхательную систему при ингаляции, в соответствии с рекомендациями [9], не должно превышать (в усл. ед.)  $1440$  ppm·мин (допустимая доза  $3$  ppm в течение 8 ч).

5. Нельзя допускать полного захлаживания NO-содержащего газового потока до комнатной температуры, при которой происходит полная полимеризация двуокиси азота с образованием четырехокиси азота ( $2\text{NO}_2 = \text{N}_2\text{O}_4$ ), обладающей резким неприятным запахом и являющейся высокотоксическим веществом [8, 10].

6. После завершения сеанса ингаляции концентрация метгемоглобина, образующегося в крови при поступлении в нее оксида азота и являющегося его биологическим маркером, не должна превышать 12% (в соответствии с работой [11]) или 20% (в соответствии с работой [12]).

На рис. 2 представлена схема разработанного манипулятора для высокодозовой ингаляции оксида азота, который является плазмохимическим генератором NO из атмосферного воздуха и формирователем NO-содержащего газового потока. Основными элементами конструкции манипулятора являются размещенные в цилиндрическом

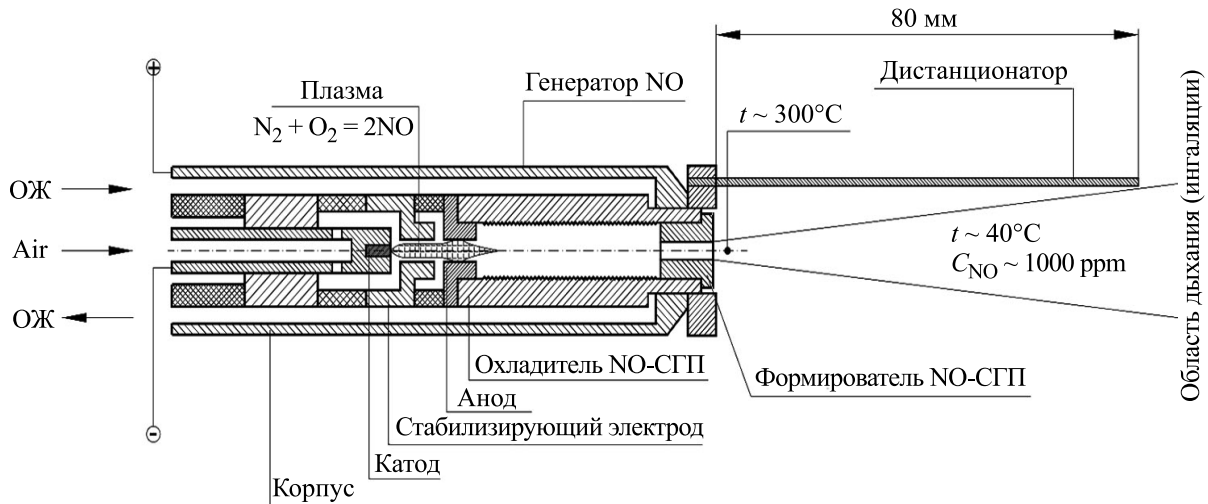


Рис. 2. Схема плазмохимической генерации оксида азота и формирования NO-СГП в ингаляционном манипуляторе: ОЖ – охлаждающая жидкость. NO-СГП – NO-содержащий газовый поток.

корпусе (внутренний диаметр 12 мм) принудительно охлаждаемые жидкостью, циркулирующей в замкнутой системе охлаждения манипулятора, катод (диаметром 1 мм), стабилизирующий электрод и анод (с внутренними диаметрами 1.1 и 1.5 мм соответственно). При работе манипулятора между катодом и анодом горит слаботочная электрическая дуга постоянного тока (~2 А), стабилизированная каналом стабилизирующего электрода. Атмосферный воздух подается в манипулятор микрокомпрессором, проходит через электрическую дугу и, переходя в плазменное состояние, нагревается до высокой температуры, достаточной для эффективного синтеза оксида азота в соответствии с плазмохимической реакцией  $N_2 + O_2 = 2NO$ . Полученный таким образом высокотемпературный NO-содержащий газовый поток через цилиндрический канал анода поступает в интегрированный в генератор NO омываемый жидкостью охладитель, проходит через цилиндрическую ребренную внутри камеру охлаждения (длина 35 мм, диаметр 5 мм) и через выходной канал (диаметр 1.1 мм) формирователя потока истекает в окружающее пространство в виде потока горячего воздуха, содержащего две специфические составляющие – молекулы оксида азота NO и двуокиси азота NO<sub>2</sub>, образующейся в результате неизбежного окисления в кислородсодержащей среде части оксида азота:  $2NO + O_2 = 2NO_2$ . Геометрические параметры охладителя обеспечивают температуру NO-СГП на выходе канала формирователя потока на уровне ~300°C, при которой предотвращается процесс полимеризации двуокиси азота NO<sub>2</sub>, приводящий к образованию четырехоксида азота N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> – токсического вещества с резким неприятным запахом.

На рис. 3 представлены основные физико-химические параметры на оси NO-содержащего газового потока, формируемого разработанным манипулятором для ингаляции, измеренные газоанализатором OPTIMA 7 производства MRU GmbH (Германия). Видно, что область NO-СГП, пригодная и приемлемая для комфортной ингаляции, находится на расстоянии 80–90 мм от выходного канала манипулятора, где температура потока составляет 40–44°C, содержание оксида азота находится на уровне 1000–1100 ppm, при этом содержание двуокиси азота не превышает 50–60 ppm, а отсутствие неприятного резкого запаха свидетельствует об отсутствии в потоке четырехоксида азота.

Для фиксации области NO-СГП, пригодной для ингаляции, манипулятор снабжается игольчатым дистанционатором длиной 80 мм, при этом количество оксида азота и двуокиси азота, поступившее в дыхательную систему в течении десятиминутного сеанса, составляет 11000 ppm·мин и 600 ppm·мин соответственно и не превышает значений, рекомендованных в [9].

**Безопасность метода.** Наши исследования на здоровых добровольцах показали [2], что ингаляция оксида азота при его высоком содержании во вдыхаемом воздухе (до 2000 ppm) ни при каких условиях не оказывает гипотензивного действия и не приводит к существенному снижению системного артериального давления.

С использованием разработанного манипулятора на здоровых добровольцах пульсоксиметром RAD-57 производства компании Masimo Corp. (США) было измерено содержание в крови метгемоглобина после ингаляции оксидом азота в диапазоне изменения его содержания в области ды-

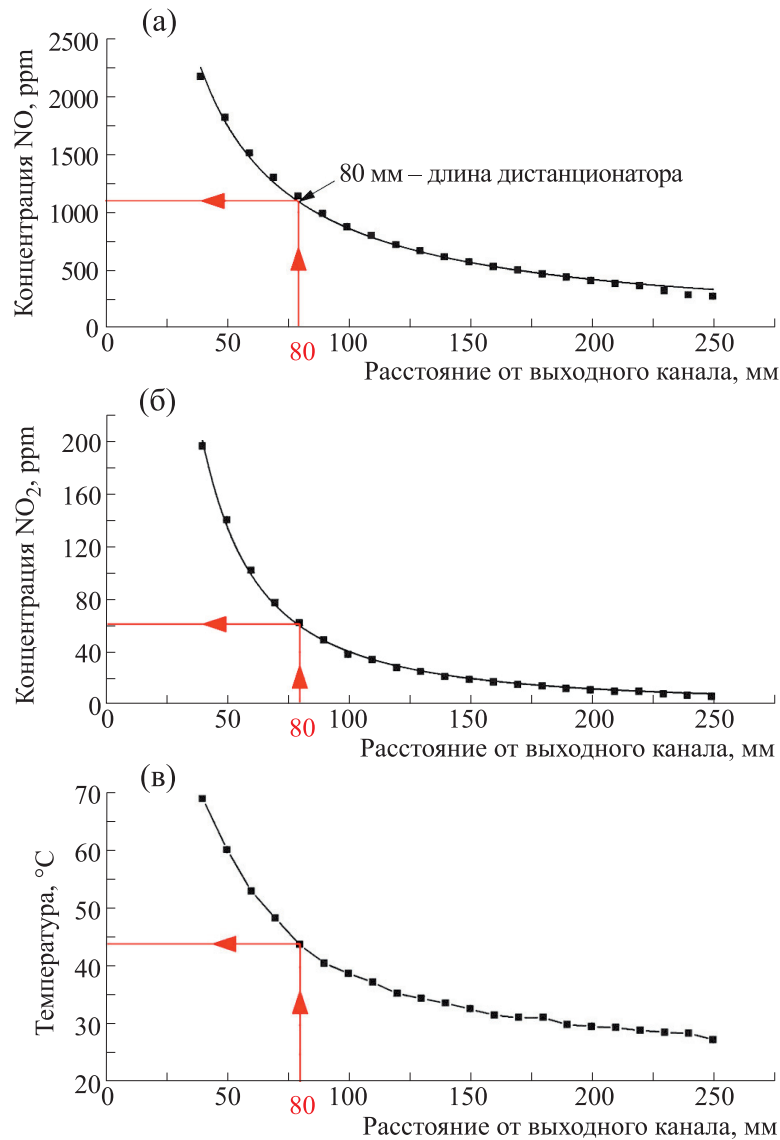


Рис. 3. Основные физико-химические параметры на оси NO-содержащего газового потока манипулятора для ингаляции при расходе воздуха ~3 л/мин.

хания от 160 до 1600 ppm при длительности ингаляции 5 и 10 мин (рис. 4). Получено, что при содержании в потоке оксида азота ~1000 ppm даже после десятиминутного сеанса содержание метгемоглобина не превышает пороговых 12%, что является безопасным для пациента.

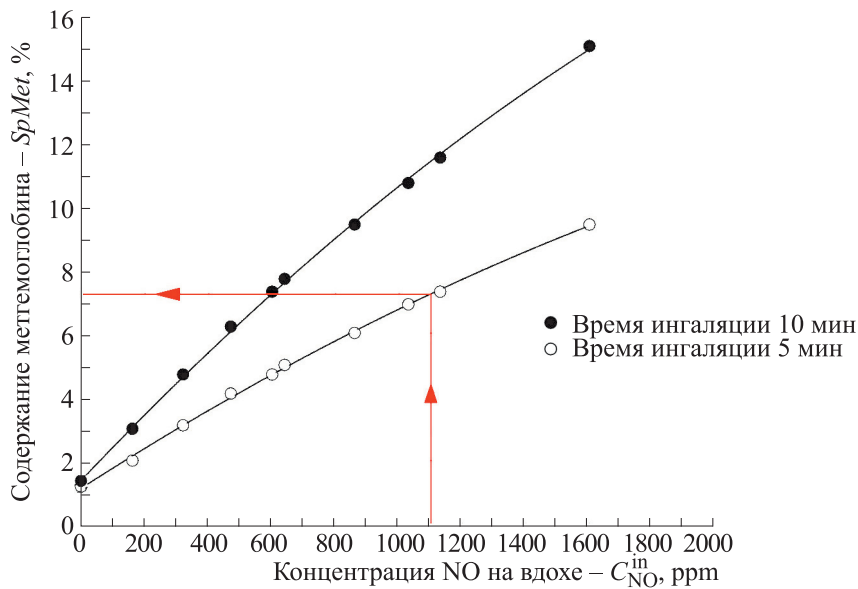
На рис. 5 показана динамика изменения содержания в крови метгемоглобина в зависимости от времени после ингаляции оксида азота. Видно, что содержание метгемоглобина спадает до физиологического уровня в течении 3-4 часов, данные получены также с использованием пульсоксиметра RAD-57.

Разработанный новый манипулятор для высокодозовой ингаляции оксида азота предназначен

для работы в составе аппарата «ПЛАЗОН», подробный обзор клинического применения которого приведен в работе [13].

**Метод использования высокодозовой ингаляции NO.** Задачей предлагаемого нового метода высокодозовой ингаляции NO является создание способа эффективного лечения больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 средней и тяжелой степени тяжести, находящихся на высокопоточной оксигенации.

Предлагаемый способ лечения заключается в том, что в дополнение к стандартному протоколу лечения пациентов (этиотропная антивирусная, антикоагулянтная, противовоспалительная, антибактериальная терапия) с пневмонией, вызван-

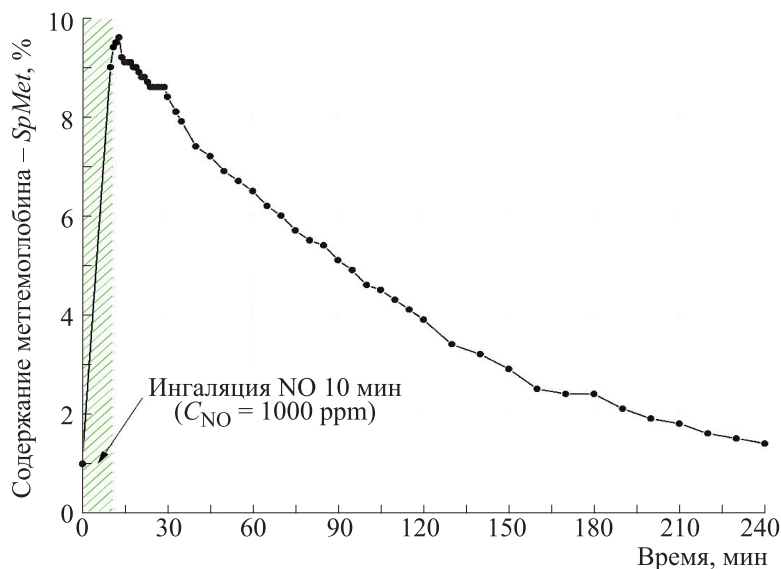


**Рис. 4.** Содержание в крови здорового добровольца метгемоглобина – биологического маркера оксида азота после ингаляции газообразного NO.

ной COVID-19 средней и тяжелой степени тяжести, находящихся на высокопоточной оксигенации с сохраненным спонтанным дыханием с использованием разработанного нового манипулятора в составе аппарата «ПЛАЗОН», проводили ингаляционную терапию высокими концентрациями экзогенного оксида азота.

Высокодозовую ингаляцию оксида азота проводили в обе ноздри больного при его спонтанном дыхании с расстояния ~8 см с концентрацией

оксида азота 1100 ppm в течение 5 мин два-три раза в день, чередуя во время сеанса лечения по индивидуальной потребности ингаляции оксида азота с высокопоточной оксигенацией, при этом дополнительно кожная поверхность всей спины больного в положении лежа на животе обрабатывали потоками оксида азота с расстояния ~8 см с концентрацией 1100 ppm в течение 5 мин два-три раза в день в течение пяти-десяти суток до купирования признаков острого респираторного дистресс-синдрома.



**Рис. 5.** Динамика изменения содержания в крови добровольца метгемоглобина в зависимости от времени после ингаляции оксида азота.

Предлагаемый новый способ лечения больных с COVID-19 высокодозовой ингаляцией NO заявлен патентом [14] и применим не только в отделениях стационарной реанимации и интенсивной терапии, но и в условиях массового поступления больных, высоко эффективен, безопасен, мобилен, полностью контролируемый, экономически мало затратен и с минимальными временными затратами на проведение процедуры на одного пациента. Клинический эффект субъективного и объективного улучшения дыхательных функций все пациенты отмечают сразу после проведения процедуры. Сразу после процедуры повышается уровень сатурации крови, восстанавливается функция дыхания, улучшаются биохимические анализы, улучшается психологическое состояние, исключаются показания к интубации и врач-реаниматологи, плавно снижая скорость высокопоточной оксигенации, переводят пациента на самостоятельное дыхание.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Всего лечение новым методом высокодозовой ингаляции NO по предложенной нами методике на фоне стандартного протокола лечения в ковидном отделении реанимации и интенсивной терапии ПСО ГБУЗ СК «ГКБ №3» г. Ставрополя проводилось с октября 2021 г. по февраль 2022 г. при добровольном согласии 18 пациентам с COVID-19 средней и тяжелой степенью поражения легких, бывших в крайне тяжелом состоянии, с отрицательной динамикой лечения и неблагоприятным прогнозом, находящихся при спонтанном дыхании на высокопоточной оксигенации со скоростью подачи кислорода от 25 до 80 л/мин. Все пациенты избежали перехода на искусственную вентиляцию легких, выжили и выздоровели. Летальные исходы не наблюдались. Анализируя результаты клинических примеров в отдаленном периоде после реабилитационной терапии, можно сделать вывод, что пациенты полностью восстановлены в витальных функциях. Предложенный новый метод лечения высокодозовой ингаляцией NO высокоэффективен, способен улучшить клинические исходы с отсутствием ограничений к применению, с оптимальными техническими требованиями и финансовыми затратами, способствует быстрому улучшению дыхательной функции, общего состояния, улучшению клинических результатов и значительному снижению летальных исходов.

**Клинические случаи.** *Пример 1.* Пациент О., 69 лет. Диагноз: новая коронавирусная инфекция COVID-19 тяжелой степени тяжести, внебольничная двухсторонняя полисегментарная пневмония с формированием фиброза КТ-3-4 (85% поражения легких), пневмомедиастинум, дыхательная недостаточность 3-й степени, токсиче-

ская анемия. Проводилось стандартное лечение по протоколу терапии COVID-19. Общее состояние крайне тяжелое. На фоне прогрессивно нарастающей дыхательной недостаточности больной переведен на высокопоточную оксигенацию с 25 до 80 л/мин, нарастало содержание С-реактивного белка (СРБ) до 45 мг/л, выраженная коагулопатия. Из-за ухудшения состояния планировался перевод на искусственную вентиляцию легких. Прогноз признан неблагоприятным. С добровольного согласия пациента проведены сеансы ингаляционного оксида азота в высоких концентрациях по предложенной нами методике: в обе ноздри больного при его спонтанном дыхании с расстояния 8 см с концентрацией оксида азота 1100 ppm в течение 5 мин три раза в день, чередуя во время сеанса лечения по индивидуальной потребности ингаляции оксида азота с высокопоточной оксигенацией, при этом дополнительно кожная поверхность всей спины больного в положении лежа на животе обрабатывалась потоками оксида азота с расстояния 8 см с концентрацией 1100 ppm в течение 5 мин три раза в день в течение восьми суток до купирования признаков острого респираторного дистресс-синдрома. Причинно-следственная связь проводимой процедуры явно выражена и очевидна, учитывая положительные отзывы самого пациента и объективного контроля сатурации легких. Сатурация увеличилась сразу во время сеанса с 72 до 88%. Уже после первого сеанса пациент отметил улучшение дыхательной функции легких, ушла боль при вдохе уже через 3 мин терапии, улучшились биохимические показатели в течении суток, СРБ снизился за сутки с 45 до 15 мг/л, нормализовались показатели коагулограммы. Лечащий врач стал снижать скорость высокопоточной оксигенации. Улучшилось отхождение мокроты. Больной быстро начал поправляться на фоне регулярных процедур ингаляции оксида азота в высоких концентрациях и воздействия NO в области легких и спины. На фоне плавного снижения скорости высокопоточной оксигенации под контролем нормализующейся сатурации до 96% был переведен на самостоятельное дыхание и на восьмые сутки после окончания курса воздействия NO по предложенной нами методике выписан из ковидного отделения с улучшением на реабилитационную терапию. Отдаленный результат здоровья благоприятный.

*Пример 2.* Пациент Ч., 62 года. Диагноз: новая коронавирусная инфекция COVID-19 тяжелой степени тяжести, внебольничная двухсторонняя пневмония тяжелой степени, дыхательная недостаточность 3-й степени, КТ-4 (80% поражения легких), сахарный диабет 2 типа инсулиннезависимый, эритроцитоз неуточненный. Проводилось стандартное лечение по протоколу терапии COVID-19. Состояние прогрессивно ухудшалось.



Общее состояние крайне тяжелое. На фоне прогрессивно нарастающей дыхательной недостаточности больной переведен на высокопоточную оксигенацию с 60 до 80 л/мин, нарастал СРБ до 28 мг/л, выраженная коагулопатия. Из-за ухудшения состояния планировался перевод на искусственную вентиляцию легких. Прогноз признан неблагоприятным. С добровольного согласия пациента проведены сеансы ингаляционного оксида азота в высоких концентрациях по предложенной нами методике: в обе ноздри больного при его спонтанном дыхании с расстояния 8 см с концентрацией оксида азота 1100 ppm в течение 5 мин три раза в день, чередуя во время сеанса лечения по индивидуальной потребности ингаляции оксида азота с высокопоточной оксигенацией, при этом дополнительно кожная поверхность всей спины больного в положении лежа на животе обрабатывалась потоками оксида азота с расстояния 8 см с концентрацией 1100 ppm в течение 5 мин три раза в день в течение десяти суток до купирования признаков острого респираторного дистресс-синдрома. Сатурация увеличилась сразу во время сеанса с 75 до 90%. Сразу после проведенного сеанса пациентом отмечена легкость дыхания, ушла боль при вдохе уже через 3 мин терапии, улучшилось психологическое состояние, улучшились биохимические показатели в течении суток, за двое суток снизился СРБ с 28 до 5.4 мг/л, нормализовались показатели коагулограммы. Лечащий врач стал снижать скорость высокопоточной оксигенации. Улучшилось отхождение мокроты, снизилась интенсивность кашля. Больной быстро начал поправляться на фоне регулярных процедур ингаляционного оксида азота в высоких концентрациях и черезкожного воздействия NO области легких и спины. На фоне плавного снижения скорости высокопоточной оксигенации под контролем восстановившейся сатурации до 98% был переведен на самостоятельное дыхание. На десятые сутки после окончания курса воздействия NO по предложенной нами методике выписан из ковидного отделения с улучшением на реабилитационную терапию. Отдаленный результат здоровья благоприятный.

*Пример 3.* Пациентка Д., 67 лет. Диагноз: новая коронавирусная инфекция COVID-19 тяжелой степени тяжести, внебольничная двухсторонняя бронхопневмония тяжелой степени тяжести, КТ-3-4 (70% поражения легких), пнвмомедиастинум, дыхательная недостаточность 1-2 степени, ишемическая болезнь сердца, кардиосклероз атеросклеротический, гипертоническая болезнь 3-й степени, риск 4, НК ПА, ФК2, сахарный диабет 2 типа впервые выявленный. Проводилось стандартное лечение по протоколу терапии COVID-19. Общее состояние крайне тяжелое. На фоне прогрессивно нарастающей дыхательной недостаточности больная переведена на высоко-

поточную оксигенацию с 20 до 65 л/мин, нарастал СРБ до 52.4 мг/л, из-за ухудшения состояния планировался перевод на искусственную вентиляцию легких. Был возможен неблагоприятный прогноз. С добровольного согласия пациентки проведены сеансы ингаляционного оксида азота в высоких концентрациях по предложенной нами методике: в обе ноздри больной при ее спонтанном дыхании с расстояния 8 см с концентрацией оксида азота 1100 ppm в течение 5 мин два раза в день, с чередованием во время сеанса лечения по индивидуальной потребности ингаляции оксида азота с высокопоточной оксигенацией, при этом дополнительно кожная поверхность всей спины больной в положении лежа на животе обрабатывалась потоками оксида азота с расстояния 8 см с концентрацией 1100 ppm в течение 5 мин два раза в день в течение пяти суток до купирования признаков острого респираторного дистресс-синдрома. Сатурация увеличилась сразу во время сеанса с 76 до 92%. Сразу после первого сеанса пациентка отметила значительное улучшение дыхательной функции легких, ушла боль при вдохе, улучшилось психологическое состояние, у пациентки появилась надежда на благоприятный исход, улучшились биохимические показатели в течении суток, в разы снизился СРБ — с 52.4 до 20.2 мг/л, нормализовались показатели коагулограммы. Лечащий врач стал снижать скорость высокопоточной оксигенации вплоть до отмены. Улучшилось отхождение мокроты, снизилась интенсивность кашля, появился аппетит. Больная быстро начала поправляться на фоне регулярных процедур ингаляционного оксида азота в высоких концентрациях и воздействия NO области легких и спины. На фоне плавного снижения скорости высокопоточной оксигенации под контролем нормализующейся сатурации до 96% была переведена на самостоятельное дыхание и на пятые сутки после окончания курса воздействия NO по предложенной нами методике выписана из ковидного отделения с улучшением на реабилитационную терапию. Отдаленный результат здоровья благоприятный.

*Пример 4.* Пациентка С., 77 лет. Диагноз: новая коронавирусная инфекция COVID-19 тяжелой степени тяжести, ишемический инсульт (лакунарный подтип по шкале TOAST) в зоне кровоснабжения левой средней мозговой артерии с развитием выраженной сенсомоторной афазии, правостороннего прозопареза, ранний восстановительный период, левосторонняя нижнедолевая пневмония средней тяжести, дыхательная недостаточность 1-2 степени, ишемическая болезнь сердца, кардиосклероз атеросклеротический, недостаточность митрального и аортального клапанов, дисфункция трикуспидального клапана и клапана легочной артерии, признаки аневризмы межпредсердной перегородки, гипертоническая

болезнь 3-й степени, риск 4, сахарный диабет 2 типа впервые выявленный, атеросклероз БЦА, двусторонняя извитость обеих ВСА с гемодинамическим сдвигом справа до 48%, железодефицитная анемия легкой степени тяжести. Проводилось стандартное лечение по протоколу терапии COVID-19. Общее состояние тяжелое. На фоне прогрессивно нарастающей дыхательной недостаточности больная переведена на высокопоточную оксигенацию с 20 до 35 л/мин. Был возможен неблагоприятный прогноз с учетом всех сопутствующих заболеваний и возраста. С добровольного согласия пациентки проведены сеансы ингаляционного оксида азота в высоких концентрациях по предложенной нами методике: в обе ноздри больной при ее спонтанном дыхании с расстояния 8 см с концентрацией оксида азота 1100 ppm в течение 5 мин два раза в день, чередуя во время сеанса лечения по индивидуальной потребности ингаляции оксида азота с высокопоточной оксигенацией, при этом дополнительно кожная поверхность всей спины больной в положении лежа на животе обрабатывалась потоками оксида азота с расстояния 8 см с концентрацией 1100 ppm в течение 5 мин два раза в день в течение пяти суток до купирования признаков острого респираторного дистресс-синдрома. Причинно-следственная связь проводимой процедуры очевидна, учитывая положительные отзывы самой пациентки и объективного контроля сатурации легких. Сатурация увеличилась сразу во время сеанса с 77 до 95%. Сразу после первого сеанса пациентка отметила значительное улучшение дыхательной функции легких, ушла боль при вдохе, улучшилось психологическое состояние, улучшились биохимические показатели в течении суток и коагулограммы, в разы снизились показатели воспаления в крови, быстро стали восстанавливаться когнитивные и двигательные функции. Лечащий врач стал снижать скорость высокопоточной оксигенации вплоть до отмены. Улучшилось отхождение мокроты, снизилась интенсивность кашля. Больная быстро начала поправляться на фоне регулярных процедур ингаляционного оксида азота в высоких концентрациях и воздействия NO области легких и спины. На фоне плавного снижения скорости высокопоточной оксигенации под контролем нормализующейся сатурации до 96% на четвертые сутки была переведена на самостоятельное дыхание и на пятые сутки после окончания курса воздействия NO по предложенной нами методике в удовлетворительном состоянии переведена из реанимационного ковидного отделения с улучшением на реабилитационную терапию. В дальнейшем благополучно выписана из стационара и хорошо себя чувствовала. Учитывая тяжесть состояния пациентки, сопутствующие заболевания и возраст к большому удивлению лечащих врачей произошедшее

быстрое выздоровление пациентки после проведенной ингаляционной NO-терапии по предложенной методике на фоне стандартного лечения представляется высокоэффективным и достаточно быстрым.

*Пример 5.* Пациент М., 57 лет. Диагноз: новая коронавирусная инфекция COVID-19 тяжелой степени тяжести, внебольничная двусторонняя полисегментарная пневмония тяжелой степени, КТ-3-4 (70% поражения легких), дыхательная недостаточность 3-й степени. Проводилось стандартное лечение по протоколу терапии COVID-19. Состояние прогрессивно ухудшалось. Общее состояние крайне тяжелое. На фоне прогрессивно нарастающей дыхательной недостаточности больной переведен на высокопоточную оксигенацию с 25 до 60 л/мин, ухудшались биохимические показатели. С добровольного согласия пациента проведены сеансы ингаляционного оксида азота в высоких концентрациях по предложенной нами методике: в обе ноздри больного при его спонтанном дыхании с расстояния 8 см с концентрацией оксида азота 1100 ppm в течение 5 мин три раза в день, чередуя во время сеанса лечения по индивидуальной потребности ингаляции оксида азота с высокопоточной оксигенацией, при этом дополнительно кожная поверхность всей спины больного в положении лежа на животе обрабатывалась потоками оксида азота с расстояния 8 см с концентрацией 1100 ppm в течение 5 мин три раза в день в течение семи суток до купирования признаков острого респираторного дистресс-синдрома. Сатурация увеличилась сразу во время сеанса с 78 до 91%. Сразу после проведенного сеанса пациентом отмечена легкость дыхания, ушла боль при вдохе, улучшилось психологическое состояние, улучшились биохимические показатели крови в течение суток. Лечащий врач стал снижать скорость высокопоточной оксигенации. Улучшилось отхождение мокроты, снизилась интенсивность кашля. Больной быстро начал поправляться на фоне регулярных процедур ингаляционного оксида азота в высоких концентрациях и черезкожного воздействия NO области легких и спины. На фоне плавного снижения скорости высокопоточной оксигенации под контролем восстановившейся сатурации до 95% был переведен на самостоятельное дыхание. На седьмые сутки после окончания курса воздействия NO по предложенной нами методике выписан из ковидного отделения с улучшением на реабилитационную терапию. Отдаленный результат здоровья благоприятный.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Как следует из вышеизложенного, использование высокодозовой ингаляции оксида азота (не менее 1000 ppm) у пациентов с разной степенью



сложности заболевания COVID-19 показало высокую эффективность этого подхода при их лечении. Все пациенты, даже исходно в крайне тяжелом состоянии с неблагоприятным прогнозом, находившиеся при спонтанном дыхании на высокопоточной оксигенации (18 пациентов), выжили и полностью выздоровели, причем без побочных постковидных осложнений. Насколько нам известно, такого результата до сих пор не было получено при использовании низкодозовой ингаляции газообразным NO (не более 160 ppm) при лечении схожих больных. Встает вопрос — чем могло быть обусловлено резкое повышение эффективности такого способа лечения пациентов, инфицированных коронавирусом SARS-Cov-2, при переходе от низко- к высокодозовой NO-ингаляции этих больных. Ответить на этот вопрос сейчас невозможно. Можно лишь предположить некоторые вероятные механизмы этого повышения, которые могли состоять в следующем.

Во-первых, при поступлении в дыхательные пути и легкие большого количества молекул NO значительная его часть могла при связывании с анионами супероксида превратиться в высокоокислительный пероксинитрит, воздействующий на коронавирус. Реализации этого процесса могло способствовать высокое содержание в дыхательных путях и легких кислорода, поступающего в эти ткани с воздухом при атмосферном давлении. Последующий при нейтральных («физиологических») значениях pH распад пероксинитрита, образующегося при связывании анионов супероксида и оксида азота, должен был приводить к появлению в тканях чрезвычайно сильного окислителя — гидроксильного радикала, который мог бы заблокировать репликацию коронавируса. Вместе с тем этот радикал мог бы, как неспецифический агент, реагирующий практически со всеми внутриклеточными компонентами, нарушить тем самым протекание множества метаболических процессов и вызвать в результате этого разнообразные патологические явления. Поскольку последние не обнаруживались у пациентов при действии на них высокодозовой NO-ингаляции, механизм ее лечебного действия на пациентов с COVID-19 через пероксинитрит представляется маловероятным.

Во-вторых, при высоком (атмосферном) содержании кислорода в дыхательных путях и легких NO мог окисляться до двуокиси азота ( $\text{NO}_2$ ), связывающейся с NO с образованием триоксида азота ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ), способного как донора катиона нитрозония ( $\text{NO}^+$ ) S-нитрозировать разнообразные тиолсодержащие белки, в том числе необходимые для реализации ковидной инфекции, например, протеазы хозяина и вируса. Однако вероятность проявления S-нитрозирующей активности триоксида азота в клетках не могла быть до-

статочно высокой из-за низкой устойчивости этого соединения, обусловленной его быстрым гидролизом при нейтральных («физиологических») значениях pH до нитрита. Другими словами, триоксид азота не способен был донести гидролизующийся катион нитрозония до тиоловых групп, характеризующихся более высоким сродством к катионам нитрозония по сравнению с его сродством к анионам гидроксила в молекулах воды. Таким образом и этот, второй механизм ингибирующего влияния газообразного NO на COVID-19 вряд ли мог быть в значительной степени вероятным.

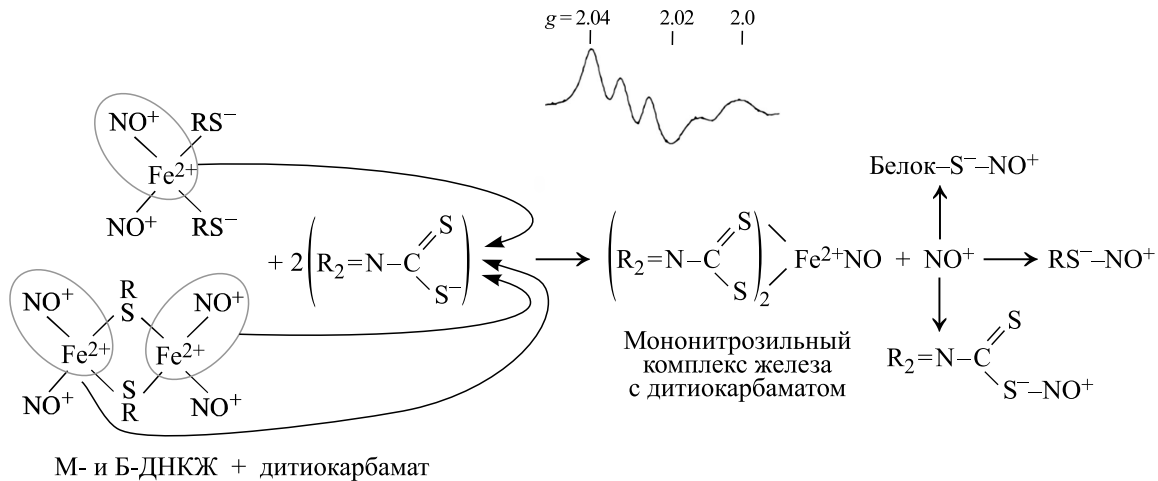
Наконец, третий механизм такого влияния может определяться способностью молекулярного оксида азота образовывать в организме животных и человека так называемые динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиолсодержащими лигандами, как низкомолекулярными, так и белковыми [15]. В согласии с современными представлениями об этих комплексах они могли выступать в живых организмах в качестве как доноров NO, так и катионов нитрозония [16]. При этом из-за достаточно высокой устойчивости ДНКЖ, в особенности, ДНКЖ белковой природы, эти комплексы могли сохранять молекулы NO и катионы нитрозония во внутриклеточном пространстве как своеобразное депо этих агентов, избирательно передавая их при столкновении внутри клеток на соответствующие мишени — гем- и тиолсодержащие белки, характеризующиеся более высоким сродством к указанным компонентам ДНКЖ, чем сами эти комплексы.

Впервые блокирующее действие ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами на вирусную инфекцию было продемонстрировано группой немецких исследователей, обнаруживших подавление активности протеазы 2A вируса Coxsackie B под действием моноядерных динитрозильных комплексов железа (M-ДНКЖ) с цистеином и особенно M-ДНКЖ, включавших в качестве лиганда цистеиновый остаток тетрапептида Leu-Ser-Tre-Cis, избирательно связывающегося с протеазой A [17]. Блокирование этого фермента под действием этих комплексов обнаруживалось как на изолированном белке, так и в опытах на культуре клеток миокарда, инфицированных вирусом Coxsackie B [17]. В обоих случаях блокада была обусловлена обратимым S-нитрозированием одной из тиоловых групп протеазы A. Эта трансформация в опытах на животных приводила к значительному ослаблению их инфекции указанным вирусом [18].

Обнаруженное S-нитрозирование протеазы A под действием ДНКЖ с цистеином, очевидно, было обусловлено катионами нитрозония, высвобождавшимися из ДНКЖ. Аналогичный вы-

вод о механизме цитотоксического действия на опухолевые клетки Jurkat М-ДНКЖ с тиосульфатом был позднее сделан и в работе группы немецких и российских исследователей [19]. Оказалось, что этот эффект не ослаблялся, а даже усиливался при совместном действии на эти клетки М-ДНКЖ с тиосульфатом и одного из производных дитиокарбамата — N-метил-D,L-глукаминдитиокарбамата.

Это усиление было обусловлено способностью производных дитиокарбамата перетягивать на себя железо-мононитрозильную ( $\text{Fe}^{2+}\text{-NO}$ ) группу из железо-динитрозильного фрагмента моноядерных и биядерных ДНКЖ с образованием устойчивых биологически неактивных мононитрозильных комплексов железа с производными дитиокарбамата и высвобождением из ДНКЖ катионов нитрозония [20] (схема 1):



**Схема 1.** Механизм превращения М- и Б-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами в МНКЖ с производными дитиокарбамата. Высвобождающиеся при этом катионы нитрозония могут S-нитрозировать низкомолекулярные и белковые тиолы, а также тиоловую группу в составе дитиокарбамата. Наверху приводится зарегистрированный при 77 К сигнал ЭПР со значениями g-фактора  $g_{\perp} = 2.04$ ,  $g_{\parallel} = 2.02$  и триплетной сверхтонкой структурой, характерный для МНКЖ с дитиокарбаматом.

Эти катионы, очевидно, и были ответственны за цитотоксическое действие ДНКЖ с тиосульфатом на клетки Jurkat.

Этот подход, а именно использование комбинации биядерных ДНКЖ с глутатионом и производного дитиокарбамата — диэтилдитиокарбамата при последовательной (биядерные ДНКЖ + диэтилдитиокарбамат) аэрозольной обработке растворами этих агентов сирийских хомячков, инфицированных коронавирусом SARS-CoV-2, позволил практически полностью заблокировать эту инфекцию у животных [21].

В связи с этим не исключается возможность того, что обнаруженное в нашей работе антиковидное действие на пациентов высокодозовой NO-ингаляции было обусловлено образованием в дыхательных путях и легких этих больных ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами. Образованию этих комплексов могла способствовать гипоксия этих органов, возникающая в них при их контакте с высоким количеством газообразного NO, связывание которого с кислородом и приводила к гипоксии. Последняя могла повышать в тканях дыхательных путей и легких уровень ком-

понента ДНКЖ — слабосвязанного (свободного) железа, что могло обеспечить появление в этих тканях значительного количества ДНКЖ. Последующий распад этих комплексов, обеспечивающий аккумуляцию в тканях катионов нитрозония, подавляющих COVID-19, мог инициироваться анионами супероксида, разрушающими ДНКЖ.

Этот — третий из приведенных возможных механизмов антиковидного действия высоких (более 1000 ppm) доз газообразного NO — представляется сейчас наиболее вероятным. Для доказательства этого необходимо только одно — проверить, действительно ли в организме животных и человека при их высокодозовой NO-ингаляции, в частности в легких, могут возникать ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в инициативном порядке.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ**

Процедуры, выполненные в работе с участием людей, соответствовали этическим стандартам Хельсинской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям. От участников исследования было получено информированное добровольное согласие.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. L. J. Ignarro, Br. J. Pharmacol., **177**, 3848 (2020).
2. А. Ф. Ванин, А. В. Пекшев, А. Б. Вагапов и др., Биофизика, **66**, 183 (2021).
3. S. B. Wiegand, L. Traeger, H. K. Nguyen, et al., Redox Biol., **39**, 101826 (2021).
4. B. Ozdemir and A. Yazici, Med. Hypotheses, **144**, 109970 (2020).
5. S. B. Wiegand, B. S. Fakhr, R. W. Carroll, et al., Crit. Care Explor., **2**, e0277 (2020).
6. B. S. Fakhr, S. B. Wiegand, R. Pinciroli, et al., Obstet. Gynecol., **136** (2020).

7. A. B. Shekhter, A. V. Pekshev, A. B. Vagapov, et al., Eur J. Pharmaceut. Sci., **128**, 193 (2019).
8. A. B. Shekhter, A. V. Pekshev, A. B. Vagapov, et al., Clin. Plasma Med., **19–20**, 100101 (2020).
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), MMWR Morbid Mortal Wkly Rep. **37**, 1 (1988).
10. В. И. Агрошенко и С. И. Каргин, *Технология азотной кислоты* (Госхимиздат, М., 1949).
11. J. N. Justice, L. C. Johnson, A. E. DeVan, et al., Aging, **7** (11), 1004 (2015).
12. H. U. Rehman, West J. Med., **175**, 193 (2001).
13. A. V. Butenko, A. B. Shekhter, A. V. Pekshev, et al., Clin. Plasma Med., **19–20**, 100112 (2020).
14. Е. В. Печёнкин, А. В. Пекшев и А. Б. Вагапов, заявка на изобретение № 2022113140 от 13.05.2022.
15. А. Ф. Ванин, *Динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами: физхимия, биология, медицина* (Институт компьютерных исследований, Ижевск, 2015).
16. A. F. Vanin, Cell Biochem. Biophys., **77**, 279 (2019).
17. C. Badorff, B. Fichtschere, A. Mulsch, et al., Nitric Oxide Biol. Chem., **6**, 305 (2002).
18. C. Badorff, B. Fichtschere, R. E. Rhoads, et al., Circulation, **102**, 162 (2000).
19. A. L. Kleschyov, S. Strand, S. Schmitt, et al., Nitric Oxide Biol. Chem., **40**, 1340 (2006).
20. A. F. Vanin, V. A. Tronov, and R. R. Borodulin, Cell Biochem. Biophys., **79**, 93 (2021).
21. А. В. Шиповалов, А. Ф. Ванин, О. В. Пьянков и др., Биофизика, **67** (5), 1 (2022).

**High Dose Inhalation with Gaseous Nitric Oxide Flow in COVID-19 Treatment**

**E.V. Pechyonkin\*, A.V. Kovrizhkin\*\*, A.V. Pekshev\*\*\*, A.B. Vagapov\*\*\*, N.A. Sharapov\*\*\*, and A.F. Vanin\*\*\*\***

*\*Stavropol State Medical University, ul. Mira 310, Stavropol, 355017 Russia*

*\*\*City Clinical Hospital №3, ul. Lenina 417, Stavropol, 355029 Russia,*

*\*\*\*N.E. Bauman Moscow State Technical University, 2-ya Baumanskaya ul. 5/1, Moscow, 105005 Russia*

*\*\*\*\*N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia*

The approach has been proposed and technically realized to manage the COVID-19 patients treated with high flow oxygen therapy, a method of high-dose inhaled gaseous nitric oxide for the treatment of spontaneously breathing patient. The results obtained demonstrate high efficiency of the new method. This paper provides a discussion of a possible mechanism of the inhibiting effect of high-doses inhaled nitric oxide on the replication of SARS-Cov-2, leading to the formation of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands in the respiratory system and lungs of patients with COVID-19. These complexes as NO and nitrosonium cation donors exert cytotoxic effects on SARS-Cov-2.

*Keywords: nitric oxide, inhalation, dinitrosyl iron complexes, COVID-19, SARS-CoV-2, PLASON*