

УДК 616.12-099:547.992-026.86:615.32:552.577.1(571.16)

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРДИТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НАТИВНЫХ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ТОРФА

Белоусов М.В.¹, Ахмеджанов Р.Р.², Зыкова М.В.¹, Маслов Л.Н.³, Гурьев А.М.¹, Юсубов М.С.^{1,2}¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск² Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск³ НИИ кардиологии СО РАМН, г. Томск

РЕЗЮМЕ

Проведенными ранее патоморфологическими исследованиями токсических свойств гуминовых кислот торфа (ГКТ) при внутрибрюшинном введении было установлено, что одной из причин гибели экспериментальных животных является их прямое кардиотоксическое действие. С целью дальнейшего изучения механизма кардиотоксического действия проведены регистрация электрокардиограммы и определение порога фибрилляции желудочков у крыс-самцов после внутрибрюшинного введения гуминовых кислот в заведомо летальной дозе – 480 мг/кг массы тела. Однократное внутрибрюшинное введение ГКТ крысам в заведомо летальной дозе вызывает значительное снижение порога фибрилляции желудочков в сравнении с интактными животными. При этом не отмечается достоверного влияния введения гуминовых кислот на частоту сердечных сокращений у крыс и изменения интервалов PQ, QT и QT_c. В то же время наблюдается достоверное укорочение комплекса QRS в сравнении с интактными животными. Судя по полученным результатам, однократная инъекция гуминовых кислот в летальной дозе индуцирует снижение электрической стабильности сердца (ЭСС), о чем свидетельствует падение порога фибрилляции желудочков. Подобный эффект может быть причиной внезапной сердечной смерти подопытных животных. Нарушение ЭСС может быть связано с ионофорным действием гуминовых кислот и изменением электрофизиологических свойств клеточных мембран.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гуминовые кислоты торфа, кардиотоксические свойства, лекарственные препараты, доклинические исследования.

Введение

В настоящее время в научной литературе имеется большое количество сведений о биологической активности солей гуминовых кислот торфов (ГКТ) и применении препаратов на их основе в медицине и ветеринарии [1–6]. Структурные особенности ГКТ [5, 7–13] обуславливают не только большое разнообразие их химических свойств, но и широкий спектр их биологической активности. В то же время фармакологические свойства и токсичность нативных ГКТ практически не изучены. Ранее [14] было проведено исследование острой токсичности нативных ГКТ месторождения Клюквенного Томской области. Для

установления причин летальности и выявления возможных органов-мишеней, поражаемых при острым токсическом воздействии, было выполнено патоморфологическое исследование трупов крыс, погибших при внутрибрюшинном введении летальных доз препарата ГКТ. Судя по результатам проведенного патоморфологического исследования, одной из причин летальности при внутрибрюшинном введении ГКТ может быть их прямое кардиотоксическое действие [14].

Цель исследования – оценить влияние нативных гуминовых кислот торфа на показатели электрической стабильности сердца и определить порог фибрилляции желудочков крыс после внутрибрюшинного введения в заведомо летальной дозе.

Материал и методы

✉ Белоусов Михаил Валерьевич, тел. 8-913-825-1771; e-mail: mvb63@mail.ru

Гуминовые кислоты извлекали из низинного древесно-травяного вида торфа месторождения Клюквенного Томской области 0,1 н раствором натрия гидроксида без нагревания, осаждали из экстракта 10%-м раствором хлористоводородной кислоты, отмывали водой очищенной до нейтральной реакции по лакмусу и высушивали при комнатной температуре. Стандартизацию исследуемых ГКТ проводили согласно разработанным ранее критериям, основанным на результатах инфракрасной (ИК) спектроскопии (анализ проводили на ИК-Фурье-спектрометре Nicolet 5700 (Thermo Electron corp., США) по методу прессования с KBr в соотношении 1 : 100, в интервале значений частоты от 500 до 4 000 см^{-1}), методом обратного титрования (содержание кислых функциональных групп определяли: а) баритовым методом – для определения суммы фенольных и карбоксильных групп; в) кальций-ацетатным методом – для определения суммы карбоксильных групп) [15]; содержание фенольных гидроксидов находили по разности между суммарным количеством функциональных групп и содержанием карбоксильных групп, элементного анализа (определяли методом сжигания на C,H,N-анализаторе Carlo Erba Strumentazione модель 1106 (Италия), содержание кислорода – по разности), спектроскопии в ультрафиолетовой (УФ) области (проводили на спектрофотометре Uvikon 943 (Италия) в диапазоне длин волн 190–700 нм в кварцевой кювете толщиной 1 см 0,001%-х водных растворов ГКТ), эксклюзионной хроматографии (проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на эксклюзионной колонке Supelco PROGEL-TSK GMPXL 300×7.8 mm (Япония); сорбент – 13 мкр, эффективность колонки – 11000 т.г.; подвижная фаза – вода, 1 мл/мин; хроматограф Agilent 1100 (Германия) с вакуумным дегазатором, четырехканальным градиентным насосом и колоночным термостатом).

Полученные ГКТ представляют собой кристаллический порошок темно-коричневого цвета, без запаха. ИК-спектр исследуемых ГКТ содержит характерные полосы поглощения при длинах волн 3 500–3 300, 3 250–3 200, 2 920–2 860, 1 460–1 440, 900–700, 2 600–2 500, 1 725–1 700, 1 625–1 610, 1 510–1 500, 1 250–1 225, 1 150–1 050 см^{-1} . Содержание карбоксильных групп 2,86 мг · экв/г; фенольных гидроксидов – 3,22 мг · экв/г. Абсорбционный спектр ГКТ в ультрафиолетовой (УФ) области выглядит как пологая кривая, имеет сплошное поглощение в интервале от 220 до 800 нм, резко возрастающее в коротковолновую сторону, имеет два максимума поглощения в области (245 ± 2) и (294 ± 2) нм. Коэффициент экстинкции при длине волны 465 нм (E_{465}) составляет 0,020 ± 0,002, при длине волны 650 нм (E_{650})

– 0,0041 ± 0,0004; рассчитанный на их основании коэффициент цветности (E_{465}/E_{650}) составляет 4,88 ± 0,05. По элементному составу ГКТ содержат масс. % С 47,0; Н 5,5; N 3,8; О 43,5. Молекулярно-массовое распределение ГКТ имеет характерный спектр, молекулярная масса ГКТ составляет 1 000–1 200 кДа.

Эксперименты проведены на 24 крысах-самцах линии Вистар массой тела 250 г. Содержание лабораторных животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных. Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с правилами лабораторной практики (GLP), приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики», руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [16]. Гуминовые кислоты вводили животным опытной группы ($n = 12$) однократно, внутривентриально в виде 3 масс. % водного раствора в дозе 480 мг/кг массы тела внутривентриально за 30 мин до регистрации ЭКГ и определения порога фибрилляции желудочков (ПФЖ). Животные контрольной группы ($n = 12$) получали дистиллированную воду по аналогичной схеме.

Определение порога фибрилляции желудочков осуществляли с помощью кардиостимулятора, разработанного компанией «Биоток» (г. Томск), по описанному ранее методу [17, 18].

За 1 мин до определения ПФЖ записывали ЭКГ и рассчитывали интервалы PQ, QRS, QT, RR. Кроме того, по формуле, предложенной A. Van de Water и соавт. [19], рассчитывали интервал QT, скорректированный на частоту сердечных сокращений (ЧСС): $QT_c = QT - 0,87(RR - 1000) = QT - 87(80/ЧСС - 1)$.

Результаты исследований обрабатывали, используя параметрический t -критерий Стьюдента. Расчеты проводили с использованием программы Statistica 6.0 для Windows.

Результаты и обсуждение

Одним из механизмов негативного влияния на миокард может быть снижение электрической стабильности сердца, что провоцирует возникновение фибрилляции желудочков и приводит к внезапной сердечной смерти [20–22], которая может наступать даже при отсутствии морфологических признаков повреждения сердца. Объективным критерием снижения электрической стабильности сердца является уменьшение ПФЖ [17, 18, 22].

Однократное внутривентриальное введение ГКТ крысам в заведомо летальной дозе вызывает значительное снижение ПФЖ (в 1,8 раза) в сравнении с интактными животными (табл. 1). При этом не отмечается

достоверного влияния введения ГКТ на частоту сердечных сокращений у крыс и изменения интервалов PQ, QT и QT_c (табл. 2). В то же время наблюдается достоверное укорочение (в 2,8 раза) комплекса QRS в сравнении с интактными животными (табл. 2).

Судя по полученным результатам, однократная инъекция ГКТ в летальной дозе (480,0 мг/кг) индуцирует снижение электрической стабильности сердца, о чем свидетельствует падение ПФЖ. Подобное снижение электрической стабильности сердца может быть причиной внезапной сердечной смерти подопытных животных. Снижение ПФЖ согласуется со снижением величины комплекса QRS. Известно, что величина комплекса QRS характеризует скорость проведения возбуждения по желудочкам [23, 24]. Продолжительность комплекса QRS косвенным образом отражает скорость деполяризации клеток сердца: чем она выше, тем короче комплекс QRS [23, 24]. Например, антиаритмические препараты I класса вызывают замедление деполяризации и

Таблица 1

Влияние однократного внутрибрюшинного введения ГКТ (480,0 мг/кг) на величину порога желудочковой фибрилляции у крыс		
Номер животного	Величина порога желудочковой фибрилляции	
	Интактные животные	Животные с предварительным введением ГК
1	1,3	0,9
2	2,2	1,0
3	1,8	1,1
4	1,8	1,1
5	1,6	0,7
6	2,0	0,9
7	2,0	1,0
8	1,8	1,0
9	2,1	1,5
10	1,4	0,9
11	1,5	0,9
12	2,1	1,1
($X \pm \Delta X$)	$1,8 \pm 0,3$ ($n = 12$)	$1,0 \pm 0,2^*$ ($n = 12$)

Примечание. n – количество подопытных животных; * – различия с контролем достоверны, $p = 0,000001$.

Таблица 2

Влияние однократного внутрибрюшинного введения гуминовых кислот (480,0 мг/кг) на частоту сердечных сокращений и показатели ЭКГ ($X \pm \Delta X$)					
Группа животных	PQ	QRS	QT	QT _c	ЧСС
Интактные ($n = 12$)	$0,042 \pm 0,005$	$0,192 \pm 0,031$	$0,080 \pm 0,026$	$74,1 \pm 1,3$	$346,6 \pm 31,0$
С предварительным введением ГК ($n = 12$)	$0,044 \pm 0,009$	$0,069 \pm 0,007^*$	$0,104 \pm 0,001$	$73,03 \pm 1,1$	$372,8 \pm 30,0$
Достоверность	$p > 0,05$	$p < 0,01$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Примечание. n – количество подопытных животных; ЧСС – частота сердечных сокращений; * – различия с контролем достоверны.

удлинение комплекса QRS за счет блокады быстрых Na⁺-каналов. В представленных экспериментах исследуемые ГКТ в летальной дозе оказывают прямо противоположный эффект – укорачивают комплекс QRS. Следовательно, имеет место основание предполагать, что они активируют быстрые Na⁺-каналы, что может вести к электрической нестабильности сердца.

В связи с чрезвычайной сложностью гетерополимерной структуры ГКТ пока не представляется возможным выделить в их макромолекуле определенный дескриптор, оказывающий влияние на трансмембранный транспорт Na⁺. Вместе с тем необходимо отметить, что особенностью ГКТ является насыщенность их молекул самыми разнообразными функциональными группами: карбоксильными, фенольными и спиртовыми гидроксилами, хиноидными группировками, метоксилами, аминами и амидогруппами [25–26]. Подобные структурные особенности ГКТ позволяют им участвовать в разнообразных окислительно-восстановительных реакциях, в фермент-субстратных взаимодействиях, влиять на осмотическое давление, образовывать комплексные соединения хелатного типа и обеспечивают ГКТ широчайший спектр биологи-

ческой активности. Ряд исследователей связывают биологическую активность ГК в основном с их электронно-донорно-акцепторными и мембранотропными свойствами. Кроме того, как коллоидные дисперсии, ГК проявляют поверхностно-активные и электроповерхностные свойства. В результате ГК способны снижать поверхностное натяжение и вязкость растворов и протоплазмы, а также проявлять ионофорное действие, изменять электрофизиологические свойства клеточных мембран [27–29]. Возможно, что именно данными особенностями ГКТ обусловлены их кардиотоксические свойства. Полученные данные о возможных механизмах кардиотоксичности нативных гуминовых кислот указывают на необходимость не только химической, но и биологической стандартизации образцов ГКТ из каждого месторождения.

Заключение

В результате экспериментального исследования кардиотоксических свойств нативных гуминовых кислот низинного торфа установлено, что однократное внутрибрюшинное введение крысам нативных ГКТ в заведомо летальной дозе (480,0 мг/кг массы тела) при-

водит к снижению электрической стабильности сердца, что является причиной внезапной сердечной смерти подопытных животных. Нарушение электрической стабильности сердца может быть связано с ионоформным действием гуминовых кислот и изменением электрофизиологических свойств клеточных мембран.

Литература

1. Комиссаров И.Д. Гуминовые препараты. Тюмень, 1974. 267 с.
2. Наумова Г.В., Стригуцкий В.П., Жмакова Н.А. и др. Связь молекулярной структуры гуминовых кислот и их биологической активности // Химия твердого топлива. 2001. № 2. С. 3–13.
3. Орлов Д.С. Свойства и функции гуминовых веществ // Гуминовые вещества в биосфере: сб. науч. тр. / под ред. Д.С. Орлова. М., 1993. С. 16–27.
4. Рупачек Э. Концентрация свободных радикалов в гуминовых кислотах, выделенных из торфа, с учетом их биологической активности // Тезисы докладов Международного симпозиума IV Комиссии МТО. М., 1993. С. 12–13.
5. Смирнова Ю.В., Виноградова В.С. Механизм действия и функции гуминовых препаратов // Агротех. вестн. 2004. № 1. С. 22–23.
6. Юдина Н.В., Писарева С.И., Саратиков А.С. Оценка биологической активности гуминовых кислот торфов // Химия твердого топлива. 1996. № 5. С. 31–34.
7. Авакумова Н.П. Гуминовые пеллоидопрепараты: перспективы использования в медицинской практике // Материалы конф. «Болота и биосфера». Томск, 2006. С. 63–72.
8. Грибан В.К. К механизму действия препаратов гумусовой природы на организм животных // Органическое вещество торфа: сб. науч. тр. Минск, 1995. С. 120–121.
9. Лиштван И.И., Капуцкий Ф.Н., Янута Ю.Г. и др. Спектральные исследования фракций гуминовых кислот // Химия твердого топлива. 2006. № 4. С. 3–11.
10. Лотош Т.Д. Механизм действия гуминовых веществ торфа // Комплексное использование торфа в народном хозяйстве: сб. науч. тр. Минск. 1981. С. 100–101.
11. Flaig W. *Chemische Untersuchungen an Humin Stoffen* // Zeitschrift fur Chemie. 1964. № 7. P. 253–265.
12. Stevenson F.J. *Humic Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*, second ed. // John Wiley & Sons, New York. 1994. P. 34–41.
13. Ziechmann W. *Humic substances and their Medical Effectiveness* // 10th International Peat Congress: Abstrs. of the 10th International Peat Congress, Stuttgart. 1996. P. 546–554.
14. Зыкова (Гостищева) М.В., Белоусов М.В., Исмаева Р.Р. и др. Изучение химико-токсикологических свойств гуминовых кислот низинного торфа Томской области // Башкир. хим. журн. 2008. Т. 15, № 2. С. 19–24.
15. Данченко Н.Н., Перминова И.В., Гармаш А.В. и др. Определение карбоксильной кислотности гумусовых кислот титриметрическими методами // Вестн. Мос. ун-та. 1998. Серия 2, Химия. Т. 39, № 2. С. 127–131.
16. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005. 832 с.
17. Lishmanov Yu.B., Maslov L.N., Naryzhnaya N.V. et al. Ligands for opioid and σ -receptors improve cardiac electrical stability in rat models of post-infarction cardiosclerosis and stress // Life Sci. 1999. № 65 (1). P. 13–17.
18. Maslov L.N., Lishmanov Yu.B., Solenkova N.V. et al. Activation of peripheral δ opioid receptors eliminates cardiac electrical instability in a rat model of post-infarction cardiosclerosis via mitochondrial ATP-dependent K^+ channels // Life Sci. 2003. № 73 (7). P. 947–952.
19. Van de Water A., Verheyen J., Xhonneux R. et al. // J. Pharmacol. Methods. 1989. № 22. P. 207–217.
20. Козловский В.И. Идиопатическая фибрилляция желудочков // Кардиология. 1996. № 36 (10). С. 76–78.
21. Мазур Н.А. Внезапная коронарная смерть // Кардиология. 1985. № 25 (4). С. 68–71.
22. DeSilva R.A., Verrier R.L., Lown B. The effect of psychological stress and vagal stimulation with morphine on vulnerability to ventricular fibrillation (VF) in the conscious dog // Am. Heart J. 1978. № 95 (2). P. 197–203.
23. Мазур Н.А., Абдалла А. Фармакотерапия аритмий. М.: Оверлей, 1995. 224 с.
24. Rosen M.R., Breithardt G., Borggreffe M. et al. The classification of antiarrhythmic drugs: How do we educate the scientist and the clinician? // Abstrs. of the Antiarrhythmic Drugs «Mechanisms of Antiarrhythmic and Proarrhythmic Actions», Heidelberg, New York. 1995. P. 393–404.
25. Комиссаров И.Д. Химическая природа и биологическое действие гуминовых кислот // Изучение и хозяйственное использование торфяных и сапропелевых ресурсов: сб. науч. тр. Тюмень, 2006. С. 315–321.
26. Комиссаров И.Д. Биологическая активность гуминовых препаратов // Досягнення та перспективи застосування гумінових речовин у сільському господарстві: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. Дніпропетровськ, 2008. С. 75–78.
27. Наумова Г.В., Стригуцкий В.П. и др. Связь молекулярной структуры гуминовых кислот и их биологической активности // Химия твердого топлива. 2001. № 2. С. 3–13.
28. Демин В.В., Терентьев В.А. и др. Механизм действия гуминовых веществ на живые клетки // Тез. докл. II Междунар. конф. «Гумусовые вещества в биосфере». М.; СПб., 2003. С. 34–35.
29. Степченко Л.М. Роль гуминовых препаратов в управлении обменными процессами при формировании биологической продукции сельскохозяйственных животных // Досягнення та перспективи застосування гумінових речовин у сільському господарстві: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. Дніпропетровськ, 2008. С. 70–74.

Поступила в редакцию 17.01.2014 г.

Утверждена к печати 24.01.2014 г.

Белоусов Михаил Валерьевич (✉) – д-р фарм. наук, зав. кафедрой фармации СибГМУ (Томск).

Ахмеджанов Рафик Равильевич – д-р биол. наук, профессор кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности НИ ТПУ (г. Томск).

Зыкова Мария Владимировна – канд. фарм. наук, доцент кафедры химии СибГМУ (г. Томск).

Маслов Леонид Николаевич – д-р мед. наук, руководитель лаборатории экспериментальной кардиологии НИИ кардиологии СО РАМН (г. Томск).

Гурьев Артём Михайлович – д-р фарм. наук, руководитель Центра внедрения технологий СибГМУ (г. Томск).

Юсубов Мехман Сулейманович – д-р хим. наук, профессор, зав. кафедрой технологии органических веществ и полимерных материалов НИ ТПУ (г. Томск), профессор кафедры химии СибГМУ (г. Томск).

✉ Белушов Михаил Валерьевич, тел. 8-913-825-1771; e-mail: mvb63@mail.ru

STUDY CARDIOTOXIC PROPERTIES OF NATIVE PEAT HUMIC ACIDS

Belousov M.V.¹, Akhmedzhanov R.R.², Zykova M.V.¹, Maslov L.N.³, Guriyev A.M.¹,
Yusubov M.S.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

² Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation

³ Research Institute of Cardiology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

The earlier pathomorphological studies of toxic properties of peat humic acids (PHAs) at intraperitoneal injection revealed that one of the causes of lethality is the direct cardiotoxic action of PHAs. For the further study of the mechanism of cardiotoxic action, electrocardiogram was recorded and ventricular fibrillation threshold was determined in male rats after intraperitoneal injection of humic acids in knowingly lethal dose – 480 mg/kg bwt. A single intraperitoneal injection of PHA to rats in knowingly lethal dose caused a significant decrease of the ventricular fibrillation threshold in comparison with intact animals. It was found that the PHA injection exerted no significant effect on the heart rate in rats and change of the PQ, QT, and QT_c intervals. At the same time, the significant shortening of the QRS complex in comparison with intact animals was observed. Judging from the results obtained, the single injection of humic acids in the lethal dose induced a decrease in the electrical stability of heart, as evidenced by the drop of the ventricular fibrillation threshold. This decrease of the electrical stability of heart can be a cause of sudden cardiac death of trial rats. Disorder of the heart electrical stability is likely connected with the ionophoric action of humic acids and change of electrophysiological properties of cell membranes.

KEY WORDS: peat humic acids, cardiotoxic properties, drugs, preclinical studies.

Bulletin of Siberian Medicine, 2014, vol. 13, no. 1, pp. 14–19

References

1. Komissarov I.D. *Humic drugs*. Tyumen, 1974. (in Russian)
2. Naumova G.V., Strigutsky V.P., Zhmakova N.A. et al. *Chemistry of Solid Fuels*, 2001, no. 2, pp. 3–13 (in Russian).
3. Orlov D.S. *Humic substances in the biosphere*. Moscow, 1993. P. 16–27 (in Russian).
4. Ripachek E. Abstracts of International Symposium IV Procurement Commission. Moscow, 1993. P. 12–13 (in Russian).
5. Smirnova Yu.V., Vinogradova V.S. *Agrochemical Herald*, 2004, no. 1, pp. 22–23 (in Russian).
6. Yudina N.V., Pisareva S.I., Saratikov A.S. *Chemistry of Solid Fuel*, 1996, no. 5, pp. 31–34 (in Russian).
7. Avakumova N.P. *Proceedings of the conference "Wetlands and the Biosphere"*. Tomsk, 2006. P. 63–72 (in Russian).
8. Griban V.K. *Peat organic matter*. Minsk, 1995 (in Russian).
9. Lishtvan I.I., Kaputsky F.N., Yanuta Yu.G. et al. *Chemistry of Solid Fuels*, 2006, no. 4, pp. 3–11 (in Russian).
10. Lotosh T.D. *Integrated use of peat in the national economy*. Minsk, 1981 (in Russian).
11. Flaig W. *Zeitschrift fur Chemie*, 1964, no. 7, pp. 253–265.
12. Stevenson F.J. New York: John Wiley & Sons. 1994. P. 34–41.
13. Ziechmann W. *Abstrs. of the 10th International Peat Congress*. Stuttgart, 1996. P. 546–554.
14. Gostishcheva M.V., Belousov M.V., Ismatova R.R. *Bashkir Chemical Journal*, 2008, vol. 15, no. 2, pp. 19–24 (in Russian).
15. Danchenko N.N., Perminova I.V., Garmash A.V. i dr. *Herald of Moscow University, 1998, Ser. 2, Chemistry*, vol. 39, no. 2, pp. 127–131 (in Russian).
16. Habriev R.U. *Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological agents*. Moscow, Medicine Publ., 2005 (in Russian).
17. Lishmanov Yu.B., Maslov L.N., Naryzhnaya N.V. et al. *Life Sci.*, 1999, no. 65 (1), pp. 13–17.
18. Maslov L.N., Lishmanov Yu.B., Solenkova N.V. et al. *Life Sci.*, 2003, no. 73 (7). P. 947–952.
19. Van de Water A., Verheyen J., Xhonneux R. et al. *J. Pharmacol. Methods*, 1989, no. 22, pp. 207–217.
20. Kozlovsky V.I. *Cardiology*, 1996, no. 36 (10), pp. 76–78 (in Russian).
21. Mazur N.A. *Cardiology*, 1985, no. 25 (4), pp. 68–71 (in Russian).
22. DeSilva R.A., Verrier R.L., Lown B. *Am. Heart J.*, 1978, no. 95 (2), pp. 197–203.
23. Abdalla N.A. *Pharmacotherapy arrhythmias*. Moscow,

- Overlay Publ., 1995 (in Russian).
24. Rosen M.R., Breithardt G., Borggreffe M. et al. Abstrs. of the Antiarrhythmic Drugs «Mechanisms of Antiarrhythmic and Proarrhythmic Actions», Heidelberg, New York, 1995. P. 393–404.
25. Komissarov I.D. The chemical nature and the biological effect of humic acid. *Study and economic use of peat and sapropel resources*. Tyumen, 2006. P. 315–321 (in Russian).
26. Komissarov I.D. Biological activity of humic preparations. *Achievements and prospects of application of humic substances in agriculture: proceedings of the International scientific-practical conference*. Dnepropetrovsk, 2008. Pp. 75–78 (in Russian).
27. Naumov G.V. *Chemistry of Solid Fuel*, 2001, no. 2, pp. 3–13 (in Russian).
28. Demin V.V. *Abstracts of the II International Conference "Humic substances in the biosphere."* Moscow; St. Petersburg, 2003. P. 34–35 (in Russian).
29. Stepchenko L.M. Role of humic substances in the management of the exchange processes during the formation of the biological production of agricultural animals. *Achievements and prospects of application of humic substances in agriculture: proceedings of the International scientific-practical conference*. Dnepropetrovsk, 2008. Pp. 70–74 (in Russian).

Belousov Michael V. (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Akhmedzhanov Rafik R., Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation.

Zykova Maria V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Maslov Leonid N., Research Institute of Cardiology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russian Federation.

Guriyev Artem M., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Yusubov Mehman S., Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

✉ **Belousov Michael V.**, Ph. +7-913-825-1771; e-mail: mvb63@mail.ru