



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-4-243-249>
УДК 616.12-085.22:547.992

К механизму кардиоваскулярных эффектов высокомолекулярных соединений гуминовой природы

Т.В. Ласукова¹, М.В. Зыкова¹, Л.А. Азаркина¹, А.С. Горбунов², И.В. Петрова¹, М.Р. Карпова¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

² Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

Аннотация

Введение. Поиск новых лекарственных препаратов, способных эффективно снижать повреждения миокарда при ишемии и реоксигенации, актуален, поскольку многие фармакологические препараты имеют ряд ограничений для пациентов, и их применение сопровождается негативными побочными эффектами.

Цель исследования: оценка возможной роли синтазы оксида азота (NO-синтазы) в механизме кардиоваскулярных эффектов стандартизированной активной фармацевтической субстанции (АФС) гуминовых кислот (ГК), выделенной из торфа.

Материал и методы. Эксперименты проведены на модели изолированного перфузируемого по методу Лангендорфа сердца крыс. Исследовали эффект стандартизованного образца ГК торфа в концентрациях 0,001; 0,01; 0,1 мг/мл на скорость коронарной перфузии и показатели сократимости миокарда. Для оценки значения NO-синтазы в реализации эффектов ГК осуществляли предварительное ингибирование фермента с помощью L-NAME (10 мМ/л) перед добавлением исследуемого образца.

Результаты. Применение образца ГК способствовало эффективному увеличению скорости коронарной перфузии сердца, обусловленному активацией NO-синтазного сигнального механизма. Наблюдалось некоторое снижение показателей сократимости и конечного диастолического давления, связанное с активацией NO-синтазы, поскольку ингибирование фермента с помощью L-NAME устраняло все исследуемые эффекты ГК.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что ГК торфа обладают вазодилатирующими свойствами, связанными с активацией NO-синтазы. Наличие такого эффекта указывает на перспективы дальнейшего исследования кардиотропных свойств этих соединений с целью разработки новых эффективных средств для улучшения внутрисердечной гемодинамики и ограничения Ca²⁺-перегрузки кардиомиоцитов в условиях ишемии и реперфузии.

Ключевые слова:	гуминовые кислоты, торф, изолированное сердце, кардиоваскулярные эффекты, NO-синтаза.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации (государственное задание № 056-00071-22-02).
Соответствие принципам этики:	все манипуляции с животными осуществляли, руководствуясь положениями приказа Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Протокол исследования № 1 от 28.01. 2022 г. был одобрен локальным комитетом по этике Сибирского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Для цитирования:	Ласукова Т.В., Зыкова М.В., Азаркина Л.А., Горбунов А.С., Петрова И.В., Карпова М.Р. К механизму кардиоваскулярных эффектов высокомолекулярных соединений гуминовой природы. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.</i> 2023;38(4):243–249. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-4-243-249 .

Прозрачность финансовой деятельности:

✉ Ласукова Татьяна Викторовна, e-mail: tlasukova@mail.ru.

On the cardiovascular effects mechanism of humic nature macromolecular compounds

Tatjana V. Lasukova¹, Marija V. Zykova¹, Ludmila A. Azarkina¹,
Alexandr S. Gorbunov², Irina V. Petrova¹, Maria R. Karpova¹

¹ Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation,
2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences
111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

Abstract

Introduction. The search for new drugs to reduce effectively myocardial damage during ischemia and reoxygenation is relevant considering that many pharmacological drugs have a number of limitations for patients and their use is accompanied by negative side effects.

Aim: To assess the NO-synthase possible role in the cardiovascular effects mechanism of the standardized active pharmaceutical substance (AFS) of the humic acids (HA) isolated from peat.

Material and Methods. The experiments were carried out on the isolated perfused rat heart model using the Langendorff method. We studied the effect of a standardized sample of peat HA at concentrations of 0.001; 0.01; 0.1 mg/ml on coronary perfusion rate and myocardial contractility parameters. To assess the NO-synthase value in the HA effects realization, the enzyme was pre-inhibited using L-NAME (10 µM/L) before the test sample addition.

Results. HA sample using contributed to an effective increase in the heart coronary perfusion rate due to the NO-synthase signaling mechanism activation. There was some decrease in contractility and end-diastolic pressure associated with the NO-synthase activation because the enzyme inhibition with L-NAME removed all effects of the test HA sample.

Conclusion. The obtained data show to the peat HA have vasodilating properties associated with the NO-synthase activation. The such effect presence indicates on the prospects for further investigation of these compounds cardiotropic properties in the order developing new effective means for improving intracardiac hemodynamics and limiting Ca²⁺ overload of cardiomyocytes in conditions of ischemia and reperfusion.

Keywords:	humic acids, peat, isolated heart, cardiovascular effects NO-synthasa.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the work was carried out with the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation (state task 056-00071-22-02).
Adherence to ethical standards:	all manipulations with animals were carried out in accordance with the provisions of the order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 01.04.2016 № 199n "On approval of the rules of good laboratory practice". The study protocol was approved by the local ethics committee of Siberian State Medical University No. 1 dated 28.01.2022.
For citation:	Lasukova T.V., Zykova M.V., Azarkina L.A., Gorbunov A.S., Petrova I.V., Karpova M.R. On the cardiovascular effects mechanism of humic nature macromolecular compounds. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2023;38(4):243–249. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-4-243-249 .

Введение

Несмотря на высокий уровень достижений современной кардиологии и фармакологии, продолжается поиск новых лекарственных препаратов, способных более эффективно снижать повреждения миокарда при ишемии и реоксигенации. Одним из наиболее опасных проявлений этих патологических состояний является феномен невосстановленного кровотока, который затрагивает коронарные сосуды. Однако многие фармакологические препараты имеют ряд ограничений для пациентов, поскольку их применение сопровождается возникновением негативных побочных эффектов.

В связи с этим наблюдается рост поисковой активности, направленной на расширение спектра веществ

природного происхождения, обладающих одновременно высокой кардиопротекторной активностью и минимальным токсическим воздействием на организм [1, 2]. В частности, к соединениям, полностью удовлетворяющим этим требованиям, относятся гуминовые вещества. Гуминовые соединения, представляя собой крайне сложный молекулярный ансамбль, проявляют плеiotропные свойства: противовоспалительные, антиоксидантные, иммуномодулирующие и т. д. [1].

Более того, проведенные ранее нашим коллективом исследования позволили также обнаружить у гуминовых кислот (ГК) (из древесно-травяного низинного торфа) новый, ранее не описанный в литературе вид фармакологической активности – кардиопротекторные свойства [3]. Относительно механизмов реализации их фармако-

логических свойств известно об индуцированной гуминовыми соединениями активации эндотелиальной синтазы оксида азота (NO-синтазы) и стимуляции продукции NO [4, 5]. Эти факты позволили нам предположить наличие кардиоваскулярного эффекта этих соединений, связанного с активацией NO-синтазы. Исходя из того, что ГК могут являться донаторами NO, можно было предположить наличие кардиоваскулярного эффекта этих соединений, связанного с активацией NO-синтазы [4, 5].

Цель исследования: изучение возможной роли NO-синтазы в механизме кардиоваскулярных эффектов стандартизированной активной фармацевтической субстанции (АФС) ГК, выделенной из торфа.

Материал и методы

Процесс выделения ГК, их качественные и количественные испытания были выполнены в соответствии с методиками, опубликованными ранее в работе [6]. Стандартизацию ГК осуществляли на основании совокупности данных инфракрасной (ИК) и электронной спектроскопии, элементного (С,Н,О) и титриметрического анализов. Спектры ИК записывали на ИК-спектрометре Фурье (марки ФСМ 1201, производства ООО «Инфраспек», Санкт-Петербург, Россия), электронные спектры записывали с использованием спектрофотометра Unicо 2800 (США), анализ элементного состава проводили с использованием С,Н,О-анализатора (марки Carlo Erba Strumentazione 1106, Италия) – содержание кислорода определяли по разности, титриметрический анализ количественного содержания кислотных функциональных групп осуществляли с использованием цифровой бюретки (марки TopBuretteH 5000 per rotation, производства ООО «Аналитик-Лаб», Пушкино, Россия).

Объектом исследования вазоактивных свойств ГК послужили изолированные сердца крыс-самцов линии Вистар. В эксперимент включали животных массой 250–300 г, проводя все болезненные процедуры под эфирным наркозом. Извлеченные из грудной клетки сердца помещали в охлажденный до +4 °С раствор Кребса – Хензеляйта с целью их полной остановки и проводили ретроградную перфузию по методу Лангендорфа. Оценивали показатели сократительной активности: силу сокращений (давление, развиваемое левым желудочком – ДРЛЖ), конечное диастолическое давление (КДД, мм рт. ст.). Для оценки кардиоваскулярных эффектов ГК определяли скорость коронарной перфузии путем подсчета количества перфузата, протекающего через сердце за 1 мин (мл/мин). Полученный по вышеописанной схеме образец исследуемых ГК применяли в концентрациях 0,001; 0,01; 0,1 мг/мл, в качестве растворителя служил раствор Кребса – Хензеляйта. Запись исследуемых показателей проводили по окончании адаптации сердца к условиям перфузии (20-я мин), на 10-й мин перфузии препаратом и 10-й мин перфузии без препарата. Контрольной серией служили сердца, перфузируемые по такой же схеме без препарата. Для оценки значения NO-синтазы в реализации эффектов ГК осуществляли предварительное ингибирование фермента с помощью L-NAME (10 µM/l) перед добавлением исследуемого образца.

Для проведения статистического анализа использовали программу STATISTICA 6.0. Для выявления межгрупповых различий пользовались непараметрическим U-критерием Манна – Уитни. Результаты исследования представлены в виде среднего арифметического

значения (M) ± стандартная ошибка среднего (уровень статистической значимости $p < 0,05$).

Результаты

Образец ГК, выделенный из торфа, представляет собой темноокрашенный порошок аморфной структуры, не имеющий запаха. На ИК-спектре торфяных ГК (рис. 1) можно обнаружить типичные для данного сырьевого источника полосы поглощения при следующих волновых числах [7, 8]: 3385 см⁻¹ (3500–3300) – это ОН группы алифатического и ароматического ряда; 3200 см⁻¹ (3250–3200) – это N-H группы в структуре аминов и амидов; 3040 см⁻¹ – ароматические =C-H группы в аренях с несколькими заместителями в кольце; 2924 см⁻¹ и 2852 см⁻¹ – метильные и метиленовые группы боковых углеводородных цепей; при 2600 см⁻¹ (2600–2500) – это ОН группы димеров карбоновых кислот; 1725 см⁻¹ (1725–1700) – это С=О группы, в т. ч. в карбоксильных группах; 1610 см⁻¹ (1625–1610) – сопряженные С=C и С=О связи в ароматическом скелете и хинонах, но в большей степени ответственны за данную полосу именно колебания ароматических С=C связей с максимумом на 1610 см⁻¹; 1513 см⁻¹ (1510–1500) – неконденсированные ароматические структуры, сопряженные с атомами кислорода и азота; 1460 см⁻¹ (1460–1440) – это С–Н метиленовых и метильных групп; 1250 см⁻¹ (1250–1225) – это С–О и О–Н связи карбоновых кислот, а также их функциональных производных (преимущественно сложных эфиров); 1050–1150 см⁻¹ – это ОН группы спиртов, гликозидные связи углеводов, лактоны, простые эфиры; 772 см⁻¹ и 836 см⁻¹ (700–900) – метиленовые группы, представленные недлинными парафиновыми цепями $-(CH_2)_n-$, где $n \leq 4$), следовательно, гидролизуемая алифатическая часть молекулы ГК, фактически полностью сложена аминокислотами и углеводами. Таким образом, в ИК-спектрах исследуемого образца ГК торфа отмечена максимальная интенсивность полос поглощения для алифатических и ароматических фрагментов структуры, для гидроксильных групп спиртов, фенолов и карбоновых кислот, а также для оксо и окси групп в структурах карбоновых кислот, амидов, сложных эфиров и лактонов, простых эфиров, гликозидов.



Рис. 1. Инфракрасный спектр торфяных гуминовых кислот
Fig. 1. Infrared spectrum of peat humic acids

ГК характеризуются достаточно высокой интенсивностью поглощения света, которая определяется величиной оптической плотности, обусловленной, в свою очередь, наличием различных сопряженных двойных связей в их структуре (углерод-углеродных, углерод-кислородных и

углерод-азотных) и, соответственно, коррелирует со степенью ароматичности и содержанием функциональных групп (особенно хиноидных) в структуре ГК [9]. Абрис электронного спектра исследуемого образца ГК (рис. 2) выглядит как пологая кривая, спектр имеет сплошное поглощение, отмечается постепенное снижение оптической плотности по мере увеличения длины волны. В видимой (400–800 нм) части спектра четко выраженных максимумов поглощения не наблюдается, а в ультрафиолетовой (200–400 нм) части спектра происходит резко возрастающее в коротковолновую сторону поглощение света. В диапазоне значений электронного спектра 255–275 нм отмечается плечо, свойственное фенольным, карбоксильным и карбонильным группам, а также полиеновым цепочкам [10, 11]. Усиление интенсивности поглощения в области 255–275 нм характеризуется переходами $n \rightarrow \pi^*$ и $\pi \rightarrow \pi^*$, что свойственно для ароматических альдегидов и кетонов, карбоновых кислот, включая их функциональные производные, а также ката- и периконденсированных ароматических систем, таких как ацены, фены, пирены и перилены.

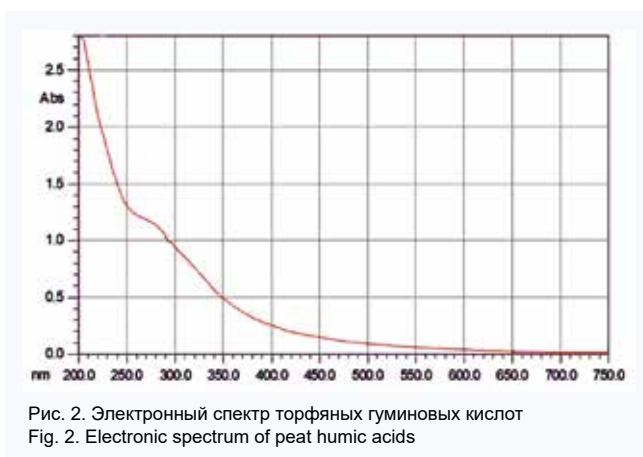


Рис. 2. Электронный спектр торфяных гуминовых кислот
Fig. 2. Electronic spectrum of peat humic acids

Оптические свойства являются весьма важным диагностическим показателем при исследовании ГК, в частности специфические спектральные коэффициенты A_{465} и A_{650} (экстинкция слоя толщиной 1 см 0,001 %-ного раствора при $\lambda = 465$ нм и $\lambda = 650$ нм), которые, согласно Д.С. Орлову [9], должны находиться в характерном для ГВ природных каустобиолитов диапазоне 0,01–0,2, а также коэффициент цветности по Е. Вельте (отношения A_{465}/A_{650}) с диапазоном значений от 3 до 5. Так, спектральные коэффициенты исследуемого образца ГК составляют: $A_{465} = 0,1284 \pm 0,0023$ и $A_{650} = 0,0398 \pm 0,0005$, коэффициент цветности (A_{465}/A_{650}) $3,2261 \pm 0,0498$, что указывает на наличие многоядерной ароматической молекулярной структуры с разветвленной системой полисопряжения [6] в строении ГК данного торфа.

Результаты титриметрического анализа позволили установить суммарное содержание кислотных функциональных групп в структуре исследуемого образца ГК торфа, равное $5,81 \pm 0,03$ мг \times экв/г, из которых карбоксильных групп порядка $2,61 \pm 0,01$ мг \times экв/г, фенольных групп – $3,20 \pm 0,02$ мг \times экв/г.

Элементный С,Н,О анализ позволяет охарактеризовать особенности строения ГК. Так, согласно критериям Д.С. Орлова [9], ГК природного происхождения содержат (%_{mass}) 46–62% С, 3–6% N, 3–5% Н и 32–38% О. Исследуемый образец ГК торфа характеризуется следующими по-

казателями элементного С,Н,О анализа: в абсолютных значениях – С $55,35 \pm 0,5$ масс.%; Н $5,86 \pm 0,05$ масс.%; N $4,20 \pm 0,03$ масс.%; О $34,30 \pm 0,44$ масс.%, в пересчете на атомные проценты – С $35,88 \pm 0,42$ атом%; Н $45,21 \pm 0,33$ атом%; N $2,33 \pm 0,02$ атом%; О $16,65 \pm 0,24$ атом%, вычисленные на их основании показатели атомных отношений элементов составили: Н/С 1,26; О/С 0,46 и С/Н 15,40.

Судя по величине показателя Н/С (1,26), согласно классификации Ван-Кревелена [12], исследуемый образец ГК торфа относится к ароматическим углеводородам, имеющим алифатические цепочки до 10 атомов углерода. Показатель атомного отношения О/С, равный 0,46, показывает относительно высокую степень окисленности молекулы исследуемого торфяного образца ГК (так, 1 атому кислорода соответствует 1,8 атома углерода) и свидетельствует о высоком содержании кислородсодержащих функциональных групп в его структуре. Величина показателя С/Н (15,40) показывает достаточно высокое содержание в молекуле ГК азота, согласно данным литературы [9], где значения С/Н в интервале от 11 до 14 свидетельствуют о высоком содержании азота, преимущественно азота белковых и пептидных фрагментов.

В дальнейших экспериментах на модели изолированного сердца были получены результаты, указывающие на наличие у исследуемого образца ГК выраженной кардиоваскулярной активности. Было установлено, что применение ГК в концентрации 0,1 мг/мл способствует достоверному увеличению скорости коронарной перфузии по сравнению с аналогичными величинами в контроле (табл. 1). Увеличение данного показателя, однако менее выраженное, также наблюдали на фоне протекания по сердечной мышце кровезамещающей жидкости с исследуемыми веществами при концентрации последних 0,01 мг/мл (см. табл. 1).

Дальнейшее снижение содержания ГК в перфузионном растворе не повлияло на скорость коронарной перфузии. Исходя из предположения о возможной роли NO-синтазы в механизме кардиоваскулярных эффектов ГК, проведены серии экспериментов с применением L-NAME. В результате удалось установить, что на фоне блокады NO-синтазы изменение скорости коронарной перфузии аналогично динамике соответствующих значений в контроле (см. табл. 1).

В экспериментах, целью которых было изучение влияния ГК на сократительную функцию сердца, препарат применяли в конечной концентрации 0,1 мг/мл. Показано, что ГК оказывают отрицательный инотропный эффект, способствуют снижению конечного диастолического давления (табл. 2). Механизм реализации полученных кардиоваскулярных эффектов, возможно, был связан с активацией гуминовыми кислотами NO-синтазы. Поэтому дальнейшие эксперименты были направлены на изучение вклада сигнального каскада NO (NO-синтазы) на проявление ГК коронарных эффектов. На основании полученных данных (см. табл. 2) можно было проследить, что на всех временных отрезках изменение показателей, отражающих сократительную активность сердца, в группе контроля и группе L-NAME происходило аналогично. При этом сам ингибитор NO-синтазы (L-NAME) не оказывал влияния на силу сокращений и конечное диастолическое давление (см. табл. 2). Таким образом, наблюдаемые кардиотропные эффекты ГК являются следствием влияния на NO-сигнальный путь.

Таблица 1. Влияние гуминовых кислот и совместного применения их с L-NAME на скорость коронарной перфузии изолированного сердца крыс, мл/мин

Table 1. The effect of humic acids and their combined use with L-NAME on the coronary perfusion rate of isolated rat heart, ml/min

	Коронарный проток, мл/мин Coronary perfusion, ml/min				
	Контроль, <i>n</i> = 10 Control, <i>n</i> = 10	ГК 0,1 мг/мл, <i>n</i> = 10 HA 0,1 mg/ml, <i>n</i> = 10	ГК 0,01 мг/мл, <i>n</i> = 10 HA 0,01 mg/ml, <i>n</i> = 10	ГК 0,001 мг/мл, <i>n</i> = 10 HA 0,001 mg/ml, <i>n</i> = 10	ГК (0,1 мг/мл) + L-NAME (10 µM/l), <i>n</i> = 12 HA 0,1 mg/ml + L-NAME (10 µM/l), <i>n</i> = 12
20-я мин адаптации 20 th min adaptation	13,2 ± 0,4	13,2 ± 0,4	13,1 ± 0,5	13,2 ± 0,4	13,2 ± 0,5
10-я мин перфузии препаратом 10 th min drug perfusion	11,7 ± 0,26	*15,7 ± 0,7	*14,4 ± 0,6	12,1 ± 0,6	12,7 ± 0,6
10-я мин перфузии без препарата 10 th min perfusion without drug	10,9 ± 0,2	11,7 ± 0,3	11,5 ± 0,4	10,5 ± 0,5	11,5 ± 0,5

Примечание: **p* < 0,05; ***p* < 0,01 – достоверность различий относительно аналогичных значений в контроле.

Note: **p* < 0,05; ***p* < 0,01 – significance vs control.

Таблица 2. Влияние гуминовых кислот на давление, развиваемое левым желудочком, и конечное диастолическое давление изолированного сердца

Table 2. The humic acids effect on the pressure developing by the left-ventricle and the end-diastolic pressure of an isolated heart

Время Time	Давление, развиваемое левым желудочком, мм рт. ст. Pressure developed by the left ventricle, mm Hg			
	Контроль, <i>n</i> = 10 Control, <i>n</i> = 10	ГК 0,1 мг/мл, <i>n</i> = 10 HA 0,1 mg/ml, <i>n</i> = 10	ГК (0,1 мг/мл) + L-NAME (10 µM/l), <i>n</i> = 12 HA 0,1 mg/ml + L-NAME (10 µM/l), <i>n</i> = 12	L-NAME, 10 µM/l, <i>n</i> = 10
20-я мин адаптации 20 th min adaptation	91 ± 5,8	93 ± 3,2	90,9 ± 6,1	92 ± 2,2
10-я мин перфузии препаратом 10 th min drug perfusion	90,9 ± 4	*70,8 ± 4	90,8 ± 6,9	87 ± 5,2
Конечное диастолическое давление, мм рт. ст. End-diastolic pressure, mm Hg				
20-я мин адаптации 20 th min adaptation	15,6 ± 0,3	15,3 ± 0,3	14 ± 0,3	15,7 ± 0,6
10-я мин перфузии препаратом 10 th min drug perfusion	13,6 ± 0,2	*12,4 ± 0,5	13,4 ± 0,9	14,7 ± 0,8

Примечание: **p* < 0,05; достоверность различий относительно аналогичных значений в контроле.

Note: **p* < 0,05; **p* < 0,05 – significance vs control.

Обсуждение

В проведенных нами экспериментах на изолированном сердце крыс установлено вазодилатирующее действие ГК, что свидетельствует о влиянии этих соединений на интенсивность коронарного кровообращения. Соответственно, возникла необходимость определить возможный механизм реализации ГК кардиотропного действия. Установление возможных сигнальных путей, опосредующих проявление ГК биологической активности, является сложной, практически нерешенной задачей и стагнируется главным образом отсутствием на сегодняшний день научно обоснованных данных о молекулярной структуре ГК. Обнаружены лишь единичные публикации по данному вопросу. Известны данные тайваньских ученых об активации эндотелиальной NO-синтазы под влиянием этих соединений. На культуре эндотелиоцитов показано, что добавление гуминовых веществ в среду их инкубации приводит к дозозависимому увеличению генерации NO [4]. Известно, что NO, имея короткий период полуэлиминации, обладает лишь паракриным действием: в близлежащих клетках увеличивает продукцию

циклического нуклеотида – цГМФ, который через систему протеинкиназ препятствует образованию актомиозинового комплекса и, таким образом, способствует расслаблению гладкомышечных клеток [13].

В проведенных нами экспериментах на фоне блокады NO-синтазы L-NAME эффект не проявлялся, что указывает на ключевую роль этого сигнального пути в реализации ГК-индуцированной вазодилатации коронарных сосудов. Полученные результаты указывают и на наличие у исследуемого образца ГК инотропной активности. Скорее всего, в механизме отмеченных эффектов также задействован NO-синтазный сигнальный путь. Известно наличие NO-синтазы во всех отделах сердца, поэтому NO влияет не только на тонус коронарных сосудов, но и на сократительную активность кардиомиоцитов [14]. Реализация молекулой NO инотропной функции связана с ее опосредованным влиянием на Ca²⁺-каналы L-типа. Активация данных потенциалзависимых каналов приводит к уменьшению содержания Ca²⁺ в саркомерме кардиомиоцитов [14, 15]. В свете сказанного причиной возникновения отрицательного инотропного эффекта и снижения

конечного диастолического давления при введении в перфузат исследуемых соединений является ограничение поступления Ca^{2+} в миофибриллы.

Заключение

Таким образом, обнаруженные и изученные у гуминовых кислот прямые кардиотропные эффекты, связанные

с влиянием на секрецию эндотелиального сосудорасширяющего фактора, определяют новую область практического применения этих соединений – кардиологию, в частности, как новых эффективных средств для улучшения внутрисердечной гемодинамики и ограничения Ca^{2+} -перегрузки кардиомиоцитов в условиях ишемии и реперфузии.

Литература / References

1. Бузлама А.В., Чернов Ю.Н. Анализ фармакологических свойств, механизмов действия и перспектив применения гуминовых веществ в медицине. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010;73(9):43–48. Buzlama A.V., Chernov U.N. Humic substances: pharmacological properties, mechanisms of action, and prospects for use in medicine. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija*. 2010;73(9):43–48. (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2010-73-9-43-48.
2. Дымбрылова О.Н., Якимова Т.В., Венгеровский А.И. Влияние экстрактов растений на инсулинорезистентность при экспериментальном сахарном диабете. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2022;37(3):128–135. Dymbrylova O.N., Yakimova T.V., Vengerovskii A.I. Influence of plant extracts on insulin resistance in experimental diabetes mellitus. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2022;37(3):128–135. (In Russ.). DOI: 10.29001/2073-8552-2022-37-3-128-135.
3. Ласукова Т.В., Зыкова М.В., Белоусов М.В., Горбунов А.С., Логвинова Л.А., Дыгай А.М. Роль NO-синтазы в реализации кардиопротективного эффекта соединений гуминовой природы на модели ишемии и реперфузии изолированного сердца крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018;166(11):537541. Lasukova T.V., Zyкова M.V., Belousov M.V., Gorbunov A.S., Logvinova L.A., Dygai A.M. Mechanisms of the cardioprotective effect of the active substance based on macromolecular compounds of humic nature during ischemia and reperfusion of isolated heart of rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018;166(11):537–541. (In Russ.). DOI: 10.1007/s10517-019-04399-y.
4. Hseu Y.C., Wang S.Y., Chen H.Y. Humic acid induces the generation of nitric oxide in human umbilical vein endothelial cells: stimulation of nitric oxide synthase during cell injury. *Free radical biology & medicine*. 2002;32(7):619629. DOI: 10.1016/s0891-5849(02)00752-9.
5. Трофимова Е.С., Зыкова М.В., Лигачёва А.А., Шерстобоев Е.Ю., Жданов В.В., Белоусов М.В. и др. Влияние гуминовых кислот торфа различного генеза на продукцию оксида азота *in vitro*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016;161(5):629638. Trofimova E.S., Zyкова M.V., Ligacheva A.A., Sherstoboev E.Y., Zhdanov V.V., Belousov M.V. et al. Effects of humic acids isolated from peat of various origin on *in vitro* production of nitric oxide: a screening study. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016;161(5):629636. (In Russ.). DOI: 10.1007/s10517-016-3486-z.
6. Zyкова M.V., Schepetkin I.A., Belousov M.V., Krivoshechekov S.V., Logvinova L.A., Bratishko K.A. et al. Physicochemical characterization and antioxidant activity of humic acids isolated from peat of various origins. *Molecules*. 2018;23(4):753. DOI: 10.3390/molecules23040753.
7. Зыкова М.В., Трофимова Е.С., Кривошечков С.В., Лигачёва А.А., Данилец М.Г., Логвинова Л.А. и др. Спектральные параметры и биологическая активность высокомолекулярных соединений гуминовой природы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(1):36–49. Zyкова M.V., Trofimova E.S., Krivoshechekov S.V., Ligacheva A.A., Danilets M.G., Logvinova L.A. et al. Spectral parameters and biological activity of macromolecular compounds of humic etiology. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017;16(1):36–49. (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2017-1-36–49.
8. Zaccone C., Miano T.M., Shoty W. Qualitative comparison between raw peat and related humic acids in an ombrotrophic bog profile. *Organic Geochemistry*. 2007;38(1):151–160. DOI: 10.1016/J.ORGGEOCHEM.2006.06.023.
9. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. Москва: МГУ; 1990:325. Orlov D.S. Gumusovye kisloty pochv i obshhaja teorija gumifikacii. Moskva: MGU; 1990:325.
10. Chen J.C., Gu B., LeBoeuf E.J. Pan H., Dai S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere*. 2002;48(1):59–68. DOI: 10.1016/s0045-6535(02)00041-3.
11. Kiprof A.K., J-Coumon M-C., Pourtier E., Kimutai S., Kirui S. Synthesis of humic and fulvic acids and their characterization using optical spectroscopy (ATR-FTIR and UV-Visible). *Int. J. Appl. Sci. Technol*. 2013;3(8):28–35.
12. Van Krevelen D.W. Graphical-statistical method for investigation of the structure of coal. *Fuel*. 1950;29:228–269.
13. Massion P.B., Feron O., Dessy C., Balligand J.-L. Role of nitric oxide in the cardiovascular and renal systems. *Int. J. Mol. Sci*. 2003;93:388–398. DOI: 10.3390/ijms19092605.
14. Зарипова Р.И., Зиятдинова Н.И., Зефирова Т.Л. Влияние блокады NO-синтазы на сократимость миокарда гипокинезированных крыс при стимуляции β -адренорецепторов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016;161(2):169–172. Zaripova R.I., Ziyatdinova N.I., Zefirov T.L. Effect of NO synthase blockade on myocardial contractility of hypokinetic rats during stimulation of β -adrenoreceptors. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016;161(2):215–217. (In Russ.). DOI: 10.1007/s10517-016-3378-2.
15. Ziolo M.T., Kohr M.J., Wang H. Nitric oxide signaling and the regulation of myocardial function. *J. Mol. Cel. Cardiol*. 2008;45(5):625–632. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2008.07.015.

Информация о вкладе авторов

Ласукова Т.В. – разработка дизайна эксперимента, составление плана статьи, редакция окончательного варианта статьи, сбор и анализ литературных источников.

Зыкова М.В. – получение активной фармацевтической субстанции ГК, проведение химических экспериментов, редакция окончательного варианта статьи, сбор и анализ литературных источников.

Азаркина Л.А. – подготовка образцов ГК, проведение химических экспериментов, оформление окончательного варианта статьи.

Горбунов А.С. – проведение экспериментов на изолированном сердце, статистическая обработка результатов.

Петрова И.В. – значительное участие в редактировании разделов статьи.

Карпова М.Р. – терминологические уточнения, составление плана статьи, редакция окончательного варианта статьи.

Information on author contributions

Lasukova T.V. – experiment design, drawing up a manuscript plan, editing the manuscript final version, collection and analysis of literary sources.

Zyкова M.V. – obtaining the active pharmaceutical HA substance, chemical experiments, editing the manuscript final version, collection and analysis of literary sources.

Azarkina L.A. – preparing HA samples, chemical experiments realization, finalizing the manuscript.

Gorbunov A.S. – an isolated heart experiments realization, the results statistical processing.

Petrova I.V. – significant participation in editing sections of the article.

Karpova M.R. – terminological clarifications, drawing up an article plan, editing the final version of the article.

Сведения об авторах

Ласукова Татьяна Викторовна, д-р биол. наук, профессор, кафедра нормальной физиологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-3274-6010.

E-mail: tlasukova@mail.ru.

Зыкова Мария Владимировна, д-р фарм. наук, заведующий кафедрой химии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск. ORCID 0000-0002-1973-8983.

E-mail: gmv2@rambler.ru.

Азаркина Людмила Анатольевна, канд. фарм. наук, доцент, кафедра химии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск. ORCID 0000-0002-0167-7043.

E-mail: ludmila_logvinova@mail.ru.

Горбунов Александр Сергеевич, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-5890-071X.

E-mail: shura.gorbunov.1982@mail.ru.

Петрова Ирина Викторовна, д-р биол. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 00000001-9034-4226.

E-mail: ivpetrova57@yandex.ru.

Карпова Мария Ростиславовна, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 00000002-7109-9955.

E-mail: karpova_mr@ssmu.ru.

 **Ласукова Татьяна Викторовна**, e-mail: tlasukova@mail.ru.

Information about the authors

Tatyana V. Lasukova, Dr. Sci (Biol.), Professor, Department of Normal Physiology, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk. ORCID 0000-0003-3274-6010.

E-mail: tlasukova@mail.ru.

Maria V. Zykova, Dr. Sci. (Pharm.), Head, Department of Chemistry, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk. ORCID 0000-0002-1973-8983.

E-mail: gmv2@rambler.ru.

Lyudmila A. Azarkina, Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Department of Chemistry, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk. ORCID 0000-0002-0167-7043.

E-mail: ludmila_logvinova@mail.ru.

Alexander S. Gorbunov, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. ORCID 0000-0002-5890-071X.

E-mail: shura.gorbunov.1982@mail.ru.

Irina V. Petrova, Dr.Sci. (Biol.), Professor, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. ORCID 00000001-9034-4226.

E-mail: ivpetrova57@yandex.ru.

Maria R. Karpova, Dr. Sci. (Med.), Head of Microbiology and Virology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. ORCID 00000002-7109-9955.

E-mail: karpova_mr@ssmu.ru.

 **Tatyana V. Lasukova**, e-mail: tlasukova@mail.ru.

Received September 7, 2023

Поступила 07.09.2023