

## Хронотропное действие иммобилизованных субтилизинов при перфузии изолированного сердца крысы

Г.И. Байкалов<sup>1,2</sup>, Н.П. Леонов<sup>1</sup>, П.Г. Мадонов<sup>1,2</sup>, К.И. Ершов<sup>1,2</sup>, К.И. Бахарева<sup>1</sup>, М.С. Солдатова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН  
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

<sup>2</sup> Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

### Резюме

Преференциальным способом оценки первичной фармакодинамики исследуемых препаратов являются фармакологические эксперименты на изолированных органах (*ex vivo*), так как данный способ полностью исключает системное влияние нейрогуморальной регуляции. В последнее десятилетие сформировалась новая группа тромболитических лекарственных препаратов на основе иммобилизованных субтилизинов. На этапе регистрационных доклинических и клинических исследований их плеiotропные фармакологические эффекты не изучались. Между тем есть основания считать, что их фармакологическая активность в кровеносном русле не ограничивается тромболитическим действием, а может оказаться расширенной до системного воздействия на сердечно-сосудистую систему. Цель исследования – изучить хронотропные эффекты изолированного сердца при его перфузии растворами иммобилизованных субтилизинов в разных концентрациях. **Материал и методы.** В исследовании использована модель изолированного сердца крысы по Лангендорфу. В эксперимент включено 50 крыс линии Вистар, разделенных на пять групп: выделенные сердца, перфузируемые только раствором Кребса – Хензеляйта (контроль) или иммобилизованными субтилизинами в четырех концентрациях (170, 340, 510 и 1020 Ед/л). **Результаты и их обсуждение.** Иммобилизованные субтилизины обладают отрицательным хронотропным эффектом. Начало эффекта зависит от концентрации препарата в растворе: чем она больше, тем раньше проявляется эффект. С 5-й по 10-ю минуту перфузии отрицательный хронотропный эффект отмечается при применении иммобилизованных субтилизинов в любой дозе. Длительность его нарастания проявляется до 10–20 минуты в зависимости от концентрации препарата в растворе. После 20-й минуты перфузии достигнутый отрицательный хронотропный эффект сохраняется на уровне плато до 40-й минуты. **Заключение.** Иммобилизованные субтилизины обладают самостоятельным фармакологическим эффектом на частоту сердечных сокращений.

**Ключевые слова:** иммобилизованные субтилизины, тромбовазим, изолированное сердце, частота сердечных сокращений.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Автор для переписки:** Байкалов Г.И., e-mail: gbaikalov@yandex.ru

**Для цитирования:** Байкалов Г.И., Леонов Н.П., Мадонов П.Г., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С. Хронотропное действие иммобилизованных субтилизинов при перфузии изолированного сердца крысы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(5):37–42. doi: 10.18699/SSMJ20220505

## Chronotropic action of immobilized subtilisins during the perfusion of an isolated rat heart

G.I. Baikalov<sup>1,2</sup>, N.P. Leonov<sup>1</sup>, P.G. Madonov<sup>1,2</sup>, K.I. Ershov<sup>1,2</sup>, K.I. Bakhareva<sup>1</sup>, M.S. Soldatova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –  
Branch of Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630060, Novosibirsk, Timakov str., 2

<sup>2</sup> Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

## Abstract

The pharmacological experiments on isolated organs (*ex vivo*) are the preferred method for assessing the primary pharmacodynamics of the studied drugs, since this method is completely excluded the systemic influence of neurohumoral regulation. In the last decade, a new group of thrombolytic drugs based on immobilized subtilisins has been formed. At the stage of registrational preclinical and clinical studies, their pleiotropic pharmacological effects have not been studied. Meanwhile, there is a reason to consider that their pharmacological activity in the bloodstream is not limited to thrombolytic action, but may be extended to a systemic effect on the cardiovascular system. The aim of the study was to investigate the chronotropic effects of an isolated heart during its perfusion with solutions of immobilized subtilisins at different concentrations. **Material and methods.** The isolated rat heart model according to Langendorff was used in the study. The experiment included 50 Wistar rats, which were divided into 5 groups: isolated hearts perfused only with Krebs – Henseleit solution (control) or with immobilized subtilisins in 4 concentrations (170, 340, 510 и 1020 U/l). **Results and discussion.** The immobilized subtilisins have a negative chronotropic effect. The onset of the effect depends on the drug concentration in the solution: the higher concentration, the earlier effect. From 5 to 10 minutes of perfusion, a negative chronotropic effect is observed using of immobilized subtilisins at any dose. The duration of its increase is manifested up to 10–20 minutes, depending on the drug concentration in solution. After 20 minutes of perfusion, the achieved negative chronotropic effect remains at a plateau level up to 40 minutes. **Conclusion.** The immobilized subtilisins have an independent pharmacological effect on heart rate.

**Key words:** immobilized subtilisins, trombovazim, isolated heart, heart rate.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Corresponding author:** Baikalov G.I., e-mail: gbaikalov@yandex.ru

**Citation:** Baikalov G.I., Leonov N.P., Madonov P.G., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S. Chronotropic action of immobilized subtilisins during the perfusion of an isolated rat heart. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):37–42. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220505

## Введение

Преференциальным способом оценки первичной фармакодинамики исследуемых препаратов являются фармакологические эксперименты на изолированных органах (*ex vivo*), так как данный способ полностью исключает системное влияние нейрогуморальной регуляции. В частности, эксперименты на изолированном сердце по Лангендорфу применяются в фармакологии многие десятилетия, и интерес к этому методу остается широким [1–8].

В последнее десятилетие сформировалась новая группа тромболитических лекарственных препаратов на основе иммобилизованных субтилизинов (ИмСубт). В России зарегистрированы две лекарственные формы под торговым наименованием «Тромбовазим»: лиофилизат для приготовления инфузионного раствора (в качестве тромболитика для лечения острого инфаркта миокарда) и пероральная форма (для лечения венозной недостаточности, с тромболитическим механизмом действия). Первичной фармакодинамикой является прямое фибринолитическое действие на фибриновый каркас тромба протео-

литического фермента субтилизина. Химические и фармакологические свойства субтилизина как фибринолитического/тромболитического агента и применение ИмСубт в клинической практике описаны в литературе [9–14].

Лекарственный препарат на основе ИмСубт позиционируется и зарегистрирован как тромболитик. На этапе регистрационных доклинических и клинических исследований его плеiotропные фармакологические эффекты не изучались. Между тем есть основания считать, что его фармакологическая активность в кровеносном русле не ограничивается тромболитическим действием, а может оказаться расширенной до системного воздействия на сердечно-сосудистую систему. Авторы запланировали и провели несколько экспериментов по определению плеiotропных эффектов ИмСубт. В данной публикации представлены данные о влиянии ИмСубт на частоту сердечных сокращений (ЧСС) изолированного сердца крысы по Лангендорфу.

Цель исследования – изучить хромотропные эффекты изолированного сердца при его перфузии растворами ИмСубт в разных концентрациях.

## Материал и методы

В экспериментальной работе использована фармацевтическая субстанция лекарственного препарата «Тромбовазим» (АО «СЦФБ», г. Новосибирск), представляющая собой лиофилизат для последующего растворения. Протеолитическая активность ИмСубт составляла 6010 Ед/г. Концентрация ИмСубт в перфузионном растворе моделировала диапазон доз от однократной терапевтической для энтерального приема с постепенным увеличением до однократной терапевтической при внутривенном введении. Доза ИмСубт представляет собой протеолитическую активность фермента в соответствии с фармакопейной статьей предприятия-изготовителя.

Эксперименты проведены на 50 лабораторных крысах-самцах линии Wistar массой 280–320 г, возраст 2–3 месяца. Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе и свободном доступе к воде и пище. Условия содержания и манипуляции с животными соответствуют стандартам, указанным в нормативных документах, регламентирующих работу с лабораторными животными (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н – Правила надлежащей лабораторной практики, Хельсинкская декларация всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996)); проведение исследования одобрено комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета Минздрава России (протокол № 143 от 24 марта 2022 г.).

Было сформировано пять экспериментальных групп, по 10 животных в каждой: сердца, перфузируемые только раствором Кребса – Хензеляйта (контроль) или иммобилизованными субтилизинами в четырех концентрациях (170, 340, 510 и 1020 Ед/л).

Животных гепаринизировали (внутрибрюшинно 500 ЕД), через 1 час декапитировали, удаляли кожный покров с грудной клетки и производили доступ к сердцу. Затем сердце быстро извлекали и помещали в емкость с охлажденным ( $t = 0$  °С) перфузионным раствором Кребса – Хензеляйта. После прекращения сокращений выделяли аорту и вводили канюлю. Для исключения попадания пузырьков воздуха в коронарное русло сердце промывали через аортальную канюлю при помощи шприца, заполненного перфузионным раствором. После этапа промывки сердце подсоединяли к системе. Коронарная перфузия ИмСубт изолированного сердца проводилась по методике Лангендорфа [1] под постоянным давлением 80 мм рт. ст. Базовым растворителем и контрольным перфузионным препаратом был

раствор Кребса – Хензеляйта (рН 7,4, температура 37,5 °С). Оксигенация сердца обеспечивалась насыщением перфузионного раствора карбогеном (95 %  $O_2$  и 5 %  $CO_2$ ). Выделенное сердце работало не менее 15 минут без рециркуляции перфузионного раствора до установления постоянных показателей давления в левом желудочке и частоты сокращений. Затем в перфузионный раствор вносили исследуемый компонент, сердце работало в режиме рециркуляции в течение 40 мин; на 5-, 10-, 20-, 30-, 40-й минуте перфузии регистрировали ЧСС.

ЧСС рассчитывали, определяя на графике количество пиков максимального давления в левом желудочке за 6 с (цифровой самописец DiSco 2, «Мотор-Тестер», Россия), по окончании периода отмывки сердца до внесения раствора ИмСубт и непосредственно в его присутствии на 5-, 10-, 20-, 30-, 40-й минуте перфузии.

Величина ЧСС в группах на этапах исследования, а также разность между этапами исследования ( $\Delta T$ ) представлены как медиана и межквартильные диапазоны (Ме [Q1; Q3]). Проверка нормальности распределения количественных признаков проведена с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для данных, имеющих нормальное распределение, использовался F-тест для проверки предположения об однородности дисперсий. Для межгруппового сравнения повторных измерений использован дисперсионный анализ повторных измерений (RM-ANOVA). Учитывая, что часть данных имела отличное от нормального распределение и некоторые данные показывали негомогенность дисперсий, перед проведением RM-ANOVA выполнена логарифмическая трансформация данных. При выполнении RM-ANOVA оценивался поправочный коэффициент сферичности Гринхауса – Гейссера, применяемый к степеням свободы, используемым для расчета  $p$ -значения для наблюдаемого значения  $F$ . Результаты RM-ANOVA представлены как межгрупповой эффект – BSE (разница между группами) и внутригрупповые эффекты WSE ( $F$  – разница между измерениями и  $G^*F$  – разница между измерениями в зависимости от принадлежности к группе). После выполнения RM-ANOVA при наличии значимых ( $p < 0,05$ ) межгрупповых и внутригрупповых эффектов выполнены апостериорный анализ: тест Фридмана – для внутригруппового анализа повторных измерений с последующим апостериорным сравнением с помощью теста Вилкоксона с применением поправки Бонферрони к  $p$ -значению, тест Краскела – Уоллиса – для межгруппового анализа количественных показателей с последующим

Таблица 1. Величина ЧСС в группах исследования, уд/мин

Table 1. Heart rate in the studied groups, bpm

Группа	0 мин	5 мин	10 мин	20 мин	30 мин	40 мин	$p_1$
ИмСубт 170 ЕД/л	220 [200; 250]	210 [200; 250]	210 [190; 240]*	205 [190; 230]*.#	205 [190; 230]*.#	210 [190; 220]*.#	< 0,001
ИмСубт 340 ЕД/л	225 [210; 250]	225 [210; 240]	215 [200; 240]*.#	215 [200; 230]*.#	210 [200; 230]*.#	205 [190; 220]*.#	< 0,001
ИмСубт 510 ЕД/л	220 [220; 240]	210 [200; 230]#	210 [200; 230]*.#	200 [190; 220]*.#	200 [190; 220]*.#	200 [200; 220]*.#	< 0,001
ИмСубт 1020 ЕД/л	220 [210; 220]	215 [200; 220]#	210 [190; 210]*.#	200 [190; 210]*.#	200 [200; 210]*.#	195 [190; 210]*.#	< 0,001
Контроль	232 [215; 246]	233 [215; 246]	243 [232; 259]#	242 [224; 251]#	247 [2325; 259]#	242 [228; 254]#	< 0,001
$p_2$	0,67	0,25	0,01	0,003	0,0006	0,0004	

**Примечание.** Индекс сферичности Гринхауса – Гейссера 0,791; BSE-G  $F = 3,98$ ,  $p = 0,008$ ; WSE-F  $F = 48,93$ ,  $p < 0,001$ ; WSE-F\*G  $F = 11,92$ ,  $p < 0,001$ ;  $p_1$  – тест Фризмана;  $p_2$  – тест Краскела – Уоллиса; \* –  $p < 0,05$  (тест Коновера, сравнение с группой контроля); # –  $p < 0,0083$  (тест Вилкоксона, сравнение с начальным этапом).

апостериорным сравнением с помощью теста Коновера – Имана.

## Результаты и их обсуждение

Как видно из табл. 1, перфузия изолированного сердца крысы раствором ИмСубт в течение 40 минут приводит к снижению ЧСС независимо от концентрации исследуемого препарата по сравнению с группой контроля (перфузии сердца раствором Кребса – Хензеляйта). Для детального анализа динамики изменений ЧСС выполнен расчет разности изменения частоты сокращения сердца ( $\Delta T$ ) между этапами исследования (табл. 2).

Динамика ЧСС в течение первых пяти минут перфузии изолированного сердца раствором ИмСубт демонстрирует начало проявлений отрица-

тельного хронотропного эффекта при использовании доз ИмСубт 510 и 1020 ЕД/л ( $p < 0,05$ ). В дозах 170 и 340 ЕД/л отмечается тенденция к снижению ЧСС, но статистических различий с группой контроля не выявлено. Изменение ЧСС с 5-й по 10-ю минуты эксперимента характеризуется развитием отрицательного хронотропного эффекта при использовании ИмСубт для перфузии изолированного сердца во всех исследуемых концентрациях ( $p < 0,05$ ). При перфузии изолированного сердца во временном промежутке между 10-й и 20-й минутой сохраняется отрицательный хронотропный эффект при перфузии ИмСубт в концентрации 170 и 340 ЕД/л ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой контроля. Между 20-й и 40-й минутой эксперимента наблюдается сохранение достигнутого снижения ЧСС при перфузии всеми иссле-

Таблица 2. Разность ( $\Delta T$ ) изменения ЧСС в зависимости от концентрации и времени перфузии ИмСубтTable 2. Difference ( $\Delta T$ ) of heart rate change depending on the concentration and time of perfusion with immobilized subtilisins

Группа	$\Delta T_1$	$\Delta T_2$	$\Delta T_3$	$\Delta T_4$	$\Delta T_5$	$\Delta T_{\text{общ}}$
ИмСубт 170 ЕД/л	0 [0; 10]	5 [0; 10]*	10 [0; 20]*	0 [0; 10]	0 [-10; 0]	15 [10; 30]*
ИмСубт 340 ЕД/л	0 [0; 10]	10 [0; 10]*	0 [0; 10]*	0 [0; 10]	10 [0; 10]	20 [20; 20]*
ИмСубт 510 ЕД/л	10 [10; 20]*	0 [0; 10]*	10 [0; 20]	0 [0; 10]	0 [-10; 0]	20 [20; 20]*
ИмСубт 1020 ЕД/л	0 [0; 10]*	10 [0; 10]*	0 [0; 10]	0 [0; 10]	5 [-10; 10]	20 [10; 30]*
Контроль	0 [-2; 0]	-10 [-17; -5]	0 [-5; 8]	-5 [8; 0]	2 [-2; 7]	-14 [-15; -7]
$p$	0,0052	0,0001	0,0283	0,2	0,13	<0,0001

**Примечание.**  $\Delta T_1$ ,  $\Delta T_2$ ,  $\Delta T_3$ ,  $\Delta T_4$ ,  $\Delta T_5$ ,  $\Delta T_{\text{общ}}$  – разность между величинами ЧСС на нулевой и пятой, пятой и десятой, десятой и двадцатой, двадцатой и тридцатой, тридцатой и сороковой, нулевой и сороковой соответственно;  $p$  – тест Краскела – Уоллиса; \* –  $p < 0,05$  (тест Коновера, сравнение с группой контроля).

двумя концентрациями ИмСубт по сравнению с перфузией раствором Кребса – Хензеляйта (см. табл. 1), но дальнейших динамических изменений ЧСС по сравнению с контрольной группой не наблюдается (см. табл. 2). Это свидетельствует о достижении максимального отрицательного хронотропного эффекта при использовании ИмСубт в исследуемых концентрациях после 20-й минуты и сохранении его в виде плато до конца эксперимента (до 40-й минуты перфузии). Динамика ЧСС на протяжении всего времени эксперимента доказывает эту гипотезу.

## Заключение

ИмСубт обладают самостоятельным фармакологическим эффектом на ЧСС. Начало проявления отрицательного хронотропного эффекта зависит от концентрации ИмСубт в растворе – чем она больше, тем раньше обнаруживается эффект. С 5-й по 10-ю минуты отрицательный хронотропный эффект ИмСубт отмечается при применении ИмСубт в любой дозе. Длительность его нарастания регистрируется до 10–20-й минуты в зависимости от концентрации препарата в перфузируемом растворе. После 20-й минуты перфузии достигнутый отрицательный хронотропный эффект сохраняется на уровне плато до 40-й минуты.

## Список литературы

1. Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Pflügers Arch.* 1895;61:291–332. doi: 10.1007/BF01812150
2. Королев Д.В., Минасян С.М., Галагудза М.М. Исследовательская установка для регистрации поверхностной электрограммы изолированного сердца лабораторных животных. *Биотехносфера.* 2014;(5):49–53.
3. Торопова Я.Г., Мухамадияров Р.А., Головкин А.С. Влияние различных концентраций липосомальной формы эмоксипина на коронарный поток, сократительную и насосную функции изолированного сердца крысы в условиях тотальной нормотермической ишемии и реперфузии. *Рос. физиол. ж.* 2013;99(7):869–875.
4. Хисамиева Л.И., Чершинцева А.М., Купцова А.М., Зиядинова Н.И., Зефиоров Т.Л. Блокада  $\alpha$ 2-адренорецепторов ингибирует работу изолированного по Лангендорфу сердца крысы. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2021;172(9):273–276. doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-273-276
5. Байкалов Г.И., Князев Р.А., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С., Мадонов П.Г. Изучение влияния иммобилизованных субтилизинов на коронарный кровоток в эксперименте на изолированном сердце крысы. *J. Sib. Med. Sci.*

2021;(3):56–65. doi: 10.31549/2542-1174-2021-3-56-65

6. Bell R.M., Mocanu M.M., Yellon D.M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2011;50(6):940–950. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.02.018

7. Olejnickova V., Novakova M., Provaznik I. Isolated heart models: cardiovascular system studies and technological advances. *Med. Biol. Eng. Comput.* 2015;53(7):669–678. doi: 10.1007/s11517-015-1270-2

8. Watanabe M., Okada T. Langendorff perfusion method as an ex vivo model to evaluate heart function in rats. *Methods Mol. Biol.* 2018;1816:107–116. doi: 10.1007/978-1-4939-8597-5\_8

9. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Киншт Д.Н., Кихтенко Н.В. Химические и фармакологические свойства субтилизинов. *Сиб. науч. мед. ж.* 2016;36(3):13–22.

10. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Киншт Д.Н., Кихтенко Н.В. Таргетная фармакодинамика субтилизинов. *Сиб. науч. мед. ж.* 2016;36(4):15–23.

11. Madonov P., Leont'ev S., Zotov S., Ufimtsev M., Mishenina S., Kinsht D. Initial results of oral thrombolytic agent clinical application. *Proceedings: proc. 25th Biennial international congress on thrombosis, Venice, Italy, May 23–26, 2018. Venice.* 2018;2(9):530. doi: 10.3390/proceedings2090530

12. Мадонов П.Г., Момот А.П., Мамаев А.Н., Ройтман Е.В., Мишенина С.В. Неплазминовый фибринолиз субтилизинами. *Тромбоз, гемостаз и реол.* 2019;(3):24–32. doi: 10.25555/THR.2019.3.0886

13. Мишенина С.В., Байкалов Г.И., Байкалова Н.Е., Макаров В.К., Мадонов П.Г. Обоснование применения иммобилизованных субтилизинов для таргетной терапии венозных тромбозов. *J. Sib. Med. Sci.* 2020;(1):76–88. doi: 10.31549/2542-1174-2020-1-76-88

14. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Ройтман Е.В., Ищенко Н.А. Фармакологический тромболитизис, что нового? *Тромбоз, гемостаз и реол.* 2020;(2):40–52. doi: 10.25555/THR.2020.2.0917

## References

1. Langendorff O. Studies on the surviving mammalian heart. *Pflügers Arch.* 1895;61:291–332. [In German]. doi: 10.1007/BF01812150
2. Korolev D.V., Minasian S.M., Galagudza M.M. Research equipment for registration of surface electrogram of the isolated heart of laboratory animals. *Biotechnosfera = Biotechnosphere.* 2014;(5):49–53. [In Russian].
3. Toropova Ya.G., Mukhamadiyrov R.A., Golovkin A.S. Effect of different concentrations liposomal emoxipine on coronary flow, contractive and pump function of the isolated rat heart after normotermic ischemia and further reperfusion. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova*

= *Russian Journal of Physiology*. 2013;99(7):869–875. [In Russian].

4. Khisamieva L.I., Chershintseva N.N., Kuptsova A.M., Ziyatdinova N.I., Zefirov T.L. Blockade of  $\alpha_2$ -adrenergic receptors inhibits functional parameters of langendorff-isolated rat heart. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;172:288–291. [In Russian]. doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-273-276

5. Baikalov G.I., Knyazev R.A., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S., Madonov P.G. Study of the immobilized subtilisins influence on coronary blood flow of an isolated rat heart. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2021;(3):56–65. [In Russian]. doi: 10.31549/2542-1174-2021-3-56-65

6. Bell R.M., Mocanu M.M., Yellon D.M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2011;50(6):940–950. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.02.018

7. Olejnickova V., Novakova M., Provaznik I. Isolated heart models: cardiovascular system studies and technological advances. *Med. Biol. Eng. Comput.* 2015;53(7):669–678. doi: 10.1007/s11517-015-1270-2

8. Watanabe M., Okada T. Langendorff perfusion method as an ex vivo model to evaluate heart function in rats. *Methods Mol. Biol.* 2018;1816:107–116. doi: 10.1007/978-1-4939-8597-5\_8

9. Madonov P.G., Mishenina S.V., Kinsht D.N., Kikhtenko N.V. Chemical and pharmacological properties of subtilisins. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*

= *Siberian Scientific Medical Journal*. 2016;36(3):13–22. [In Russian].

10. Madonov P.G., Mishenina S.V., Kinsht D.N., Kikhtenko N.V. Targeted pharmacodynamic of subtilisins. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2016;36(4):15–23. [In Russian].

11. Madonov P., Leont'ev S., Zotov S., Ufimtsev M., Mishenina S., Kinsht D. Initial results of oral thrombolytic agent clinical application. *Proceedings: proc. 25th Biennial international congress on thrombosis, Venice, Italy, May 23–26, 2018. Venice*. 2018;2(9):530. doi: 10.3390/proceedings2090530

12. Madonov P.G., Momot A.P., Mamaev A.N., Roitman E.V., Mishenina S.V. Non-plasmin fibrinolysis with immobilized subtilisins. *Tromboz, gemostaz i reologiya = Thrombosis, Hemostasis and Rheology*. 2019;(3):24–32. [In Russian]. doi: 10.25555/THR.2019.3.0886

13. Mishenina S.V., Baikalov G.I., Baikalova N.E., Makarov V.K., Madonov P.G. Rationale for the use of immobilized subtilisins for targeted therapy of venous thrombosis. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020;(1):76–88. doi: 10.31549/2542-1174-2020-1-76-88

14. Madonov P.G., Mishenina S.V., Roitman E.V., Ishchenko N.A. Pharmacological thrombolysis: what's new? *Tromboz, gemostaz i reologiya = Thrombosis, Hemostasis and Rheology*. 2020;(2):40–52. [In Russian]. doi: 10.25555/THR.2020.2.0917

#### Сведения об авторах:

**Герман Игоревич Байкалов**, ORCID: 0000-0002-5445-9920, e-mail: gbaikalov@yandex.ru

**Николай Петрович Леонов**, к.м.н., ORCID: 0000-0002-4364-8937, e-mail: nikoleonov@yandex.ru

**Павел Геннадьевич Мадонов**, д.м.н., ORCID: 0000-0002-1093-8938, e-mail: pmadonov@yandex.ru

**Константин Игоревич Ершов**, к.б.н., ORCID: 0000-0003-4139-036X, e-mail: ershov\_k@bk.ru

**Ксения Игоревна Бахарева**, ORCID: 0000-0003-2054-1659, e-mail: xeniabahareva@yandex.ru

**Марина Сергеевна Солдатова**, ORCID: 0000-0003-1050-6921, e-mail: schnuffel-bunny@rambler.ru

#### Information about the authors:

**German I. Baikalov**, ORCID: 0000-0002-5445-9920, e-mail: gbaikalov@yandex.ru

**Nikolai P. Leonov**, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-4364-8937, e-mail: nikoleonov@yandex.ru

**Pavel G. Madonov**, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-1093-8938, e-mail: pmadonov@yandex.ru

**Konstantin I. Ershov**, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-4139-036X, e-mail: ershov\_k@bk.ru

**Kseniya I. Bakhareva**, ORCID: 0000-0003-2054-1659, e-mail: xeniabahareva@yandex.ru

**Marina S. Soldatova**, ORCID: 0000-0003-1050-6921, e-mail: schnuffel-bunny@rambler.ru

Поступила в редакцию 16.05.2022

Принята к публикации 20.07.2022

Received 16.05.2022

Accepted 20.07.2022