

Инотропные эффекты изолированного сердца крысы при коронарной перфузии иммобилизованными субтилизинами

Г.И. Байкалов^{1, 2}, Н.П. Леонов¹, П.Г. Мадонов^{1, 2}, К.И. Ершов^{1, 2}, К.И. Бахарева¹, М.С. Солдатова¹

¹НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . В настоящее время иммобилизованные субтилизины (ИмС) используются в качестве фибринолитического агента антитромботических лекарственных средств. Влияние ИмС на сократительную функцию сердца ранее не было изучено.

Ц е л ь . Изучить влияние коронарной перфузии ИмС на сократительную функцию изолированного сердца крысы в эксперименте.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . В исследовании использована модель коронарной ретроградной перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу растворами ИмС в разных концентрациях. В эксперимент было включено 50 крыс-самцов. Животные были разделены на 5 групп: 1-я группа – контрольная (сердца, перфузируемые только раствором Кребса – Хензеляйта) и 4 опытные группы – сердца, перфузируемые раствором ИмС в концентрациях 170, 340, 510 и 1020 ЕД/л соответственно. Сократительную функцию (инотропный эффект) изолированного сердца крысы оценивали по показателю давления, развиваемого левым желудочком (ДЛЖ).

Р е з у л ь т а т ы . Перфузия изолированного сердца крысы раствором ИмС в течение 40 мин вызывает положительный инотропный эффект во всех опытных группах. При концентрации 170 ЕД/л эффект наблюдается с 10-й минуты, при более высоких концентрациях – с 5-й минуты. Длительность нарастания эффекта при применении ИмС в диапазоне доз 170–510 ЕД/л проявляется до 20-й минуты, а при использовании дозы 1020 ЕД/л – до 30-й минуты. Затем отмечается ослабление инотропного эффекта. В группах животных с введением ИмС в концентрации 340–1020 ЕД/л отмечается снижение ДЛЖ к 40-й минуте, но значения этого показателя остаются выше по сравнению с контрольной группой.

З а к л ю ч е н и е . Перфузия изолированного сердца раствором ИмС повышает сократительную активность изолированного сердца. При перфузии ИмС наблюдается увеличение ДЛЖ. Инотропный эффект имеет дозозависимый характер в различных временных точках.

Ключевые слова: иммобилизованные субтилизины, сократительная способность сердца, Тромбозавим.

Образец цитирования: Байкалов Г.И., Леонов Н.П., Мадонов П.Г., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С. Инотропные эффекты изолированного сердца крысы при коронарной перфузии иммобилизованными субтилизинами // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):96–107. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-96-107

Inotropic effects of an isolated rat heart under the coronary perfusion with immobilized subtilisins

G.I. Baikalov^{1, 2}, N.P. Leonov¹, P.G. Madonov^{1, 2}, K.I. Ershov^{1, 2}, K.I. Bakhareva¹, M.S. Soldatova¹

¹Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Immobilized subtilisins are currently used as a fibrinolytic agent in antithrombotic drugs. The effect of immobilized subtilisins (ISs) on the contractile function of the heart has not been previously studied.

Поступила в редакцию 09.04.2022
Прошла рецензирование 15.06.2022
Принята к публикации 16.06.2022

Автор, ответственный за переписку
Байкалов Герман Игоревич: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52.
E-mail: gbaikalov@yandex.ru

Received 09.04.2022
Revised 15.06.2022
Accepted 16.06.2022

Corresponding author
German I. Baikalov: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: gbaikalov@yandex.ru

A i m . To study the effect of coronary perfusion with immobilized subtilisins (ISs) on the contractile function of an isolated rat heart in an experiment.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The study used a Langendorff model of coronary retrograde perfusion of an isolated rat heart with solutions of ISs at different concentrations. The experiment included 50 male rats. The animals were divided into 5 groups: group 1 – control (hearts perfused only with Krebs-Henseleit solution) and 4 experimental groups – hearts perfused with a solution of ISs at concentrations of 170, 340, 510 and 1020 IU/l, respectively. The contractile function (inotropic effect) of the isolated rat heart was assessed in terms of the pressure developed by the left ventricle (LVP).

R e s u l t s . Perfusion of an isolated rat heart with a solution of ISs for 40 min causes a positive inotropic effect in all experimental groups. At a concentration of 170 IU/l, the effect is observed from the 10th minute, at higher concentrations – from the 5th minute. The duration of the effect's rising when using ISs in the dose range of 170–510 U/l manifests itself up to the 20th minute, and when using a dose of 1020 U/l – up to the 30th minute. Then there is a weakening of the inotropic effect. In groups of animals with the introduction of immobilized subtilisins at a concentration of 340–1020 U/l, there is a decrease of LVP by the 40th minute, but the values of this indicator remain higher compared to the control group.

C o n c l u s i o n . Perfusion of the isolated heart with a solution of ISs increases the contractile activity of the isolated heart. When the heart is perfused with ISs, there is an increase of LVP. The inotropic effect is dose-dependent at various time points.

Keywords: immobilized subtilisins, cardiac contractility, Trombovazim.

Citation example: Baikalov G.I., Leonov N.P., Madonov P.G., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S. Inotropic effects of an isolated rat heart under the coronary perfusion with immobilized subtilisins. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):96–107. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-96-107

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время иммобилизованные субтилизины (ИмС) используются в качестве фибринолитического агента антитромботических лекарственных средств [1–4]. В России зарегистрирован лекарственный препарат Тромбовазим на основе ИмС в качестве тромболитика для лечения острого инфаркта миокарда (лиофилизат для инфузии) и венозной недостаточности (капсулы для приема внутрь). Основа фармакодинамики ИмС – прямое фибринолитическое действие на фибриновый каркас и прямое протеолитическое – на клеточно-белковый детрит тромба. Фармакологически активным ингредиентом ИмС является протеиназа – субтилизин. На этапе регистрационных исследований вопрос о влиянии ИмС на сократительную функцию сердца не изучен. В экспериментальной фармакологии применяется модель изолированного сердца крысы по Лангендорфу, которая позволяет установить фармакологические эффекты препаратов без участия нервной и гуморальной систем регуляции [5–7]. Сократительную функцию (инотропный эффект) изолированного сердца крысы можно оценить по давлению, развиваемому левым желудочком (ДЛЖ) [8–10].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние коронарной перфузии ИмС на сократительную функцию изолированного сердца крысы в эксперименте по Лангендорфу.

INTRODUCTION

Currently, immobilized subtilisins (ISs) are used as a fibrinolytic agent in antithrombotic drugs [1–4]. In Russia, the drug Trombovasim based on ISs has been registered as a thrombolytic agent for the treatment of acute myocardial infarction (lyophilisate for infusion) and venous insufficiency (capsules for oral administration). The basis of the pharmacodynamics of ISs is a direct fibrinolytic effect on the fibrin scaffold and a direct proteolytic effect on the cellular protein detritus of the thrombus. The pharmacologically active ingredient of ISs is a proteinase – subtilisin. At the stage of registration studies, the issue of the ISs' effect on the contractile function of the heart has not been studied. In experimental pharmacology, the Langendorff-perfused rat heart is used, which makes it possible to establish the pharmacological effects of drugs without the participation of the nervous and humoral regulatory systems [5–7]. The contractile function (inotropic effect) of the isolated rat heart can be assessed by the pressure developed by the left ventricle (LVP) [8–10].

AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of coronary perfusion of ISs on the contractile function of an isolated rat heart in the Langendorff experiment.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were performed according to the classical Langendorff method [11]. Perfusion through coronary vessels was performed at a constant pres-

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены по классической методике Лангендорфа [11]. Перфузию через коронарные сосуды проводили при постоянном давлении 80 мм рт. ст. В качестве перфузата использовался раствор Кребса – Хензеляйта (рН – 7.4, температура – 37.5 °С), который являлся контролем и растворителем для исследуемого препарата. Для адекватной оксигенации сердца перфузионный раствор насыщался карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂). Инотропный эффект ИмС оценивался по показателю давления в левом желудочке. Для регистрации давления использовали баллончик в полости левого желудочка. Объем жидкости, подаваемый в баллончик, соответствует нижней границе красной вертикальной шкалы до отметки, равной 0.25 В. Далее сигнал поступал на аналогово-цифровой преобразователь и затем на персональный компьютер. Данные о силе сокращения левого желудочка представлены в виде значений напряжения в вольтах (высота пика), измеренного на осциллографе DiSco 2 (ООО «Мотор-Мастер», Россия). По окончании эксперимента полученные данные высоты пика вносили в таблицу Excel, и программа автоматически пересчитывала значения из вольт в мм рт. ст.

Эксперименты проведены на 50 крысах-самцах линии Вистар массой 280–320 г. Животные были разделены на 5 групп (в каждой по 10 особей): 1-я группа – контрольная, сердца перфузируемые только раствором Кребса – Хензеляйта; и 4 опытные группы – сердца, перфузируемые ИмС в концентрациях 170, 340, 510 и 1020 Ед/л соответственно. Концентрации соответствуют терапевтическим дозам лекарственного препарата на основе ИмС. В опытных группах по истечении 20 мин перфузии на фоне стабильной работы сердца в перфузат вносились ИмС в расчетной дозе. Момент введения иммобилизованных субтилизинов в перфузионный раствор обозначался как точка 0 (нулевая минута). В этой точке ДЛЖ считается исходным. Перфузия исследуемым препаратом продолжалась в течение 40 мин. Изменения ДЛЖ фиксировались на 5, 10, 20, 30 и 40-й минутах. В контрольной группе с 0-й по 40-ю минуту перфузия производилась раствором Кребса – Хензеляйта.

Статистический анализ данных проведен с использованием программ MedCalc 11.3.3 (MedCalc Software), STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc.) и Microsoft Office Excel 2007. Показатели давления в левом желудочке в группах на этапах исследования, а также разность показателей давления в левом желудочке между этапами исследования (ΔT) представлены как медианные и

sure of 80 mm Hg. Krebs-Henseleit solution (pH – 7.4, temperature – 37.5°C) was used as perfusate, which was the control and solvent for the studied drug. For adequate oxygenation of the heart, the perfusion solution was saturated with carbogen (95% O₂ and 5% CO₂). The inotropic effect of ISs was assessed by the LVP value. To register the pressure, a balloon was used in the cavity of the left ventricle. The volume of liquid supplied to the balloon corresponds to the lower limit of the red vertical scale up to a mark equal to 0.25 V. Then the signal was sent to an analog-to-digital converter and then to a personal computer. Data on the strength of contraction of the left ventricle are presented in the form of voltage values in volts (peak height) measured on a DiSco 2 oscilloscope (Motor-Master LLC, Russia). At the end of the experiment, the obtained peak height data was entered into an Excel spreadsheet, and the program automatically recalculated the values from volts to mm Hg.

The experiments were carried out on 50 male Wistar rats weighing 280–320 g. The animals were divided into 5 groups (each with 10 individuals): group 1 – control, hearts perfused only with Krebs-Henseleit solution, and 4 experimental groups – hearts perfused with ISs at concentrations of 170, 340, 510 and 1020 U/l, respectively. Concentrations correspond to therapeutic doses of a ISs-based drug. In the experimental groups, after 20 min of perfusion, ISs were introduced into the perfusate at the calculated dose in stable heart function. The moment of introduction of ISs into the perfusion solution was designated as point 0 (zero minute). At this point, the LVP is considered as a baseline. Perfusion with the studied drug lasted for 40 min. Changes in the LVP were recorded at 5, 10, 20, 30 and 40 min. In the control group, perfusion was performed with Krebs-Henseleit solution from the 0th to the 40th minute.

Statistical data analysis was carried out using MedCalc 11.3.3 (MedCalc Software), STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc.) and Microsoft Office Excel 2007. The LVP in the groups at the study stages, as well as the difference in the left ventricle pressure between the study stages (ΔT) are presented as median and interquartile ranges. Verification of the normality of the distribution of quantitative parameters was carried out using the Shapiro-Wilk test. For data with a normal distribution, an *F*-test for homogeneity of variances was used. For the intergroup comparison of the repeated-measure analysis of variance (RM-ANOVA) was used. Given that some of the data had a different distribution from normal and some data showed inhomogeneity of variances, a logarithmic transformation of the data was performed before RM-ANOVA. During the RM-ANOVA, the Green-

межквартильные диапазоны. 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 неомогенность дисперсий, перед проведением RM-ANOVA выполнена логарифмическая трансформация данных. При проведении RM-ANOVA оценивался коэффициент сферичности Гринхуса – Гейсера, который использован в качестве поправочного коэффициента, примененного к степеням свободы, используемым для расчета p для наблюдаемого значения F . Результаты RM-ANOVA представлены как межгрупповой эффект – BSE (разница между группами) и внутригрупповые эффекты – WSE (F – разница между измерениями и $G \cdot F$ – разница между измерениями в зависимости от принадлежности к группе). После выполнения RM-ANOVA при наличии значимых ($p < 0.05$) межгрупповых и внутригрупповых эффектов выполнены *post hoc* анализы. Тест Фридмана использовался для внутригруппового анализа повторных измерений с последующим апостериорным сравнением с помощью теста Вилкоксона с применением поправки Бонферрони к значению p ; тест Крускала – Уоллиса – для межгруппового анализа количественных показателей в 3 и более группах с последующим апостериорным сравнением с помощью теста Коновера – Инмана.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки влияния перфузии ИмС на силу мышечных сокращений изолированного сердца проводилась регистрация давления, развиваемого кардиомиоцитами в левом желудочке. В соответствии с методологией эксперимента этот показатель представляет собой давление в баллоне, находящемся в левом желудочке, и выражается в мм рт. ст. В табл. 1 представлены цифровые значения ДЛЖ во всех исследуемых группах, включая контрольную, на всех временных этапах эксперимента.

Для удобства анализа этого показателя построен график (рис. 1). Очевидно, что перфузия изолированного сердца раствором ИмС приводит к нарастанию силы сердечных сокращений при всех концентрациях исследуемого препарата по сравнению с перфузией раствором Кребса –

house-Geisser sphericity index was estimated, which is used as a correction factor applied to the degrees of freedom used to calculate p for the observed value of F . The results of RM-ANOVA are presented as an intergroup effect – BSE (difference between groups) and intragroup effects – WSE (F – difference between measurements and $G \cdot F$ – difference between measurements depending on group membership). After RM-ANOVA was conducted, *post hoc* analyses were performed in the presence of significant ($p < 0.05$) intergroup and intragroup effects. The Friedman test was used for intragroup analysis of repeated measurements followed by a posteriori comparison using the Wilcoxon test with the Bonferroni correction to the p value; the Kruskal-Wallis test was used for intergroup analysis of quantitative indicators in 3 or more groups followed by a posteriori comparison using the Conover-Inman test.

RESULTS AND DISCUSSION

To assess the effect of perfusion with ISs on the strength of muscle contractions of an isolated heart, the pressure developed by cardiomyocytes in the left ventricle was recorded. In accordance with the methodology of the experiment, this indicator represents the pressure in the balloon located in the left ventricle, and is expressed in mm Hg. Table 1 shows the values of the LVP in all the study groups, including the control group, at all time stages of the experiment.

For the convenience of analyzing this indicator, a graph has been constructed (Fig. 1). It is obvious that perfusion of the isolated heart with a solution of ISs leads to an increase in the strength of heart contractions at all concentrations of the studied drug compared to perfusion with a Krebs-Henseleit solution. Change in myocardial contractility is an increase followed by a decrease in the LVP. This circumstance dictates the need to analyze the dynamics of changes (difference) of this indicator (ΔT) at the stages of the experiment.

The analysis of the dynamics of changes (ΔT – difference) in the LVP in the experimental and control groups between the stages of the study is presented in Table 2.

After 5 min of perfusion with a solution of ISs, there was an increase in the LVP for all concentrations ($p < 0.05$) compared with the control (Fig. 2).

At the next time interval (5–10 min), there was an increase in the dynamics of the LVP in all experimental groups ($p < 0.05$) compared with the control group. A similar trend was observed when analyzing the dynamics of the LVP and up to the 20th minute (Fig. 3, 4).

In the period from the 20th to the 30th minute of perfusion, the dynamics of myocardial contractility

Таблица 1. Значения давления в левом желудочке, мм рт. ст.
Table 1. Values of pressure in the left ventricle, mm Hg

Группа Group	0 мин 0 min	5 мин 5 min	10 мин 10 min	20 мин 20 min	30 мин 30 min	40 мин 40 min	p
ИмС 170 ЕД/л ISs 170 U/l (n = 10)	79 (71; 82)	81 (73; 84)#	88 (81; 91)#★	92 (88; 108)#★	88 (86; 97)#★	82 (78; 86)#	<0.001†
ИмС 340 ЕД/л ISs 340 U/l (n = 10)	77 (70; 86)	86 (84; 92)#★	94 (89; 101)#★	102 (95; 108)#★	94 (86; 97)#★	90 (81; 91)#★	<0.001†
ИмС 510 ЕД/л ISs 510 U/l (n = 10)	72 (70; 91)	81 (70; 98)#★	87 (81; 102)#★	94 (86; 103)#★	88 (80; 99)#★	82 (75; 94)#★	<0.001†
ИмС 1020 ЕД/л ISs 1020 U/l (n = 10)	73 (68; 91)	80 (74; 102)#★	87 (81; 105)#★	94 (88; 110)#★	99 (90; 104)#★	97 (78; 115)#★	<0.001†
Контроль (р-р Кребса – Хенхзеляйта) Control (Krebs- Henseleit solution) (n = 10)	69 (64; 72)	70 (65; 72)	73 (68; 75)★	73 (70; 76)★	73 (68; 76)★	71 (68; 76)★	<0.001†
p	0.34*	0.03*	0.002*	0.0009*	0.0007*	0.0035*	

П р и м е ч а н и я : RM-ANOVA: индекс сферичности Гринхауса – Гейсера – 0.629; BSE-G: $F = 3.93, p = 0.008$; WSE-F: $F = 102.92, p < 0.001$; WSE-F · G: $F = 4.65, p < 0.001$.

Данные представлены как медиана (25-й; 75-й процентиль); * тест Крускала – Уоллиса; # $p < 0.05$ тест Коновера – Инмана (сравнение с контрольной группой); † тест Фридмана; ★ $p < 0.0083$ тест Вилкоксона для парных выборок (сравнение с начальным этапом).

N o t e s : RM-ANOVA: Greenhouse-Geisser sphericity index – 0.629; BSE-G: $F = 3.93, p = 0.008$; WSE-F: $F = 102.92, p < 0.001$; WSE-F · G: $F = 4.65, p < 0.001$.

Data are presented as median (25th; 75th percentile); * Kruskal-Wallis test; # $p < 0.05$ Conover-Inman test (comparison with the control group); † Friedman test; ★ $p < 0.0083$ Wilcoxon test for paired samples (comparison with baseline).

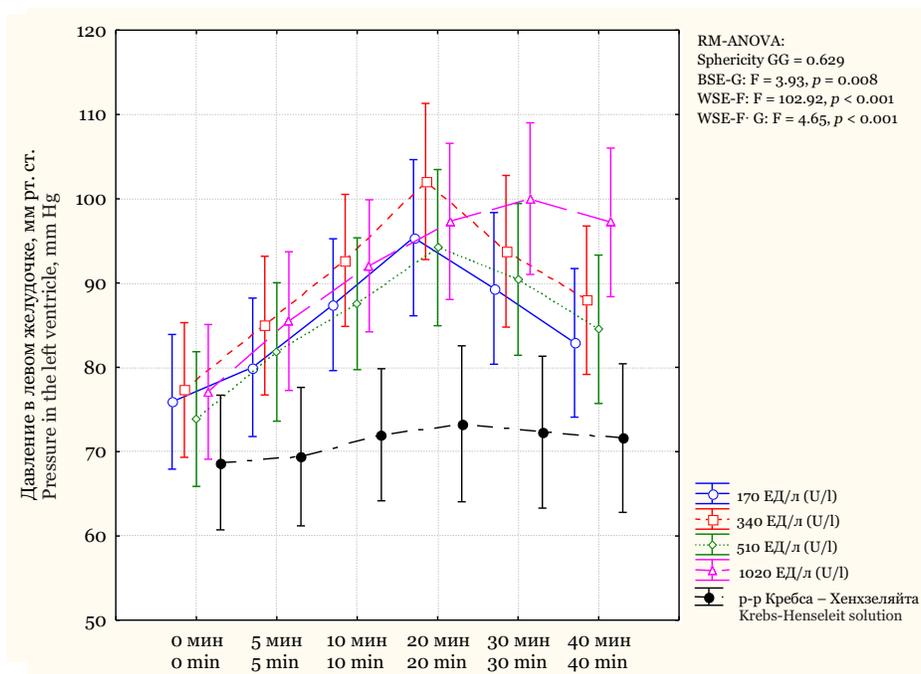


Рис. 1. Изменение давления в левом желудочке при перфузии изолированного сердца в исследуемых группах раствором ИмС в разной концентрации и контрольным раствором

Fig. 1. Changes in the LVP during perfusion of an isolated heart in the studied groups with a solution of ISs at different concentrations and the control solution

Таблица 2. Разность изменения ДЛЖ (ΔT) в опытных и контрольной группах между этапами исследования
Table 2. The difference in the change in LVP (ΔT) in the experimental and control groups between the stages of the study

Группа	$\Delta T_{1(0-5)}$	$\Delta T_{2(5-10)}$	$\Delta T_{3(10-20)}$	$\Delta T_{4(20-30)}$	$\Delta T_{5(30-40)}$	$\frac{\Delta T_{\text{обш(0-40)}}}{\Delta T_{\text{general(0-40)}}$
ИмС 170 ЕД/л ISs 170 U/l (n = 10)	-5.4 (-10.8; -1.1)#	-6.5 (-9.7; -4.3)#	-7.5 (-17.2; -2.2)#	5.4 (2.2; 8.6)#	5.9 (3.2; 10.8)#	-5.9 (-11.8; -3.2)#
ИмС 340 ЕД/л ISs 340 U/l (n = 10)	-6.5 (-10.8; -5.4)#	-8.1 (-10.8; -5.4)#	-7 (-14; -5.4)#	9.7 (5.4; 10.8)#	5.4 (5.4; 6.5)#	-9.7 (-18.3; -5.4)#
ИмС 510 ЕД/л ISs 510 U/l (n = 10)	-9.1 (-10.8; -5.4)#	-4.8 (-6.5; -4.3)#	-5.9 (-9.7; -3.2)#	5.9 (-1.1; 7.5)	5.9 (4.3; 10.8)#	-8.6 (-17.2; -6.5)#
ИмС 1020 ЕД/л ISs 1020 U/l (n = 10)	-5.9 (-10.8; -5.4)#	-7 (-8.6; -3.2)#	-5.4 (-6.5; -4.3)#	-5.4 (-8.6; 5.4)	6.5 (-6.5; 11.8)#	-13.4 (-36.6; -10.8)#
Контроль (р-р Кребса – Хензеляйта) Control (Krebs- Henseleit solution) (n = 10)	-0.5 (-2; 1)	-3 (-3; -2)	-1 (-2; -1)	1 (0; 2)	1 (0; 2)	-3 (-4; -2)
p	0.0006*	0.0001*	0.0024*	0.001*	0.03*	0.0015*

П р и м е ч а н и е . Данные представлены как медиана (25-й; 75-й процентиль); * тест Крускала – Уоллиса; # $p < 0.05$ тест Коновера – Инмана (сравнение с контрольной группой).

N o t e s . Data are presented as median (25th; 75th percentile); * Kruskal-Wallis test; # $p < 0.05$ Conover-Inman test (comparison with the control group).

Хензеляйта. Изменение контрактильности миокарда представляет собой повышение с последующим снижением показателя ДЛЖ. Это обстоятельство диктует необходимость проведения анализа динамики изменений (разности) этого показателя (ΔT) на этапах эксперимента.

Анализ динамики изменений (ΔT – разность) ДЛЖ в опытных и контрольной группах между этапами исследования представлен в табл. 2.

Через 5 мин перфузии раствором ИмС отмечается прирост ДЛЖ для всех концентраций ($p < 0.05$) по сравнению с контролем (рис. 2).

На следующем временном отрезке (5–10 мин) отмечалось увеличение динамики показателя ДЛЖ во всех опытных группах ($p < 0.05$) по сравнению с группой контроля. Аналогичный тренд наблюдался при анализе динамики ДЛЖ и до 20-й минуты (рис. 3, 4).

В период с 20-й по 30-ю минуту перфузии динамика контрактильности миокарда показала тренд на снижение (возврат к исходным значениям) только в группах с концентрацией ИмС 170 и 340 ЕД/л (рис. 5). При этом значения ДЛЖ (см. табл. 1, рис. 1) во всех группах оставались выше значений ДЛЖ в контрольной группе.

В период с 30-й по 40-ю минуту перфузии динамика контрактильности миокарда имела тренд на снижение во всех опытных группах, что

showed a downward trend (return to baseline values) only in groups at a ISs concentration of 170 and 340 U/l (Fig. 5). At the same time, in all groups the values of the LVP (see Table 1, Fig. 1) remained above the values of the LVP in the control group.

In the period from the 30th to the 40th minute of perfusion, the dynamics of myocardial contractility tended to decrease in all experimental groups, which indicated a weakening of the inotropic effect of ISs and a return of the LVP to the baseline values (Fig. 6). At the same time, in all groups the LVP values (see Fig. 1, Table 1) remained higher than the LVP values in the control group.

In the diagram shown on Fig. 7, the dynamics of the LVP increase under the perfusion with ISs and Krebs-Henseleit control solution during the entire time of the experiment is displayed. All the concentrations of ISs have an increase in the LVP compared to the control group ($p < 0.05$).

Thus, the perfusion of an isolated heart with a solution of ISs increases the pressure in the left ventricle, which, in turn, indicates a positive inotropic effect caused by them. The onset of the effect depends on the concentration of the ISs in the solution. At a concentration of 170 U/l, an increase in the pressure in the left ventricle is detected from the 10th minute, at higher concentrations – from the 5th minute. The duration of the increase in the effect when using ISs

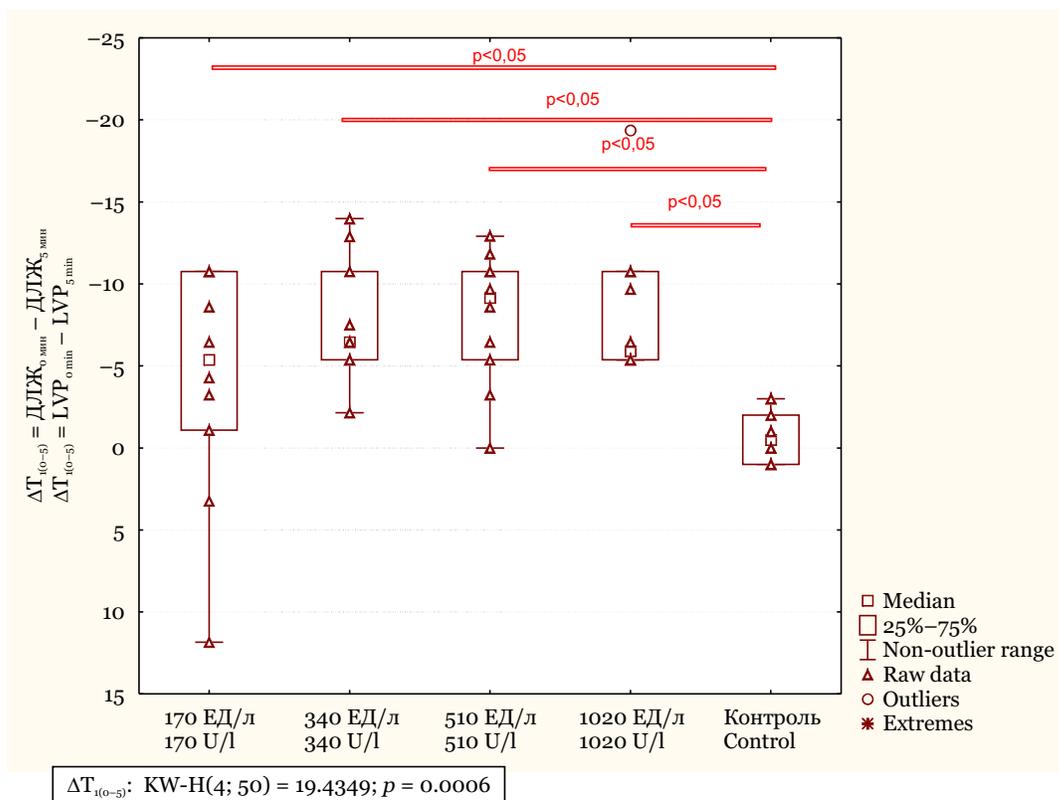


Рис. 2. Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 5-й минуте перфузии $\Delta T_{1(0-5)}$
Fig. 2. The difference in changes of the LVP in the experimental and control groups at the 5th minute of perfusion ($\Delta T_{1(0-5)}$)

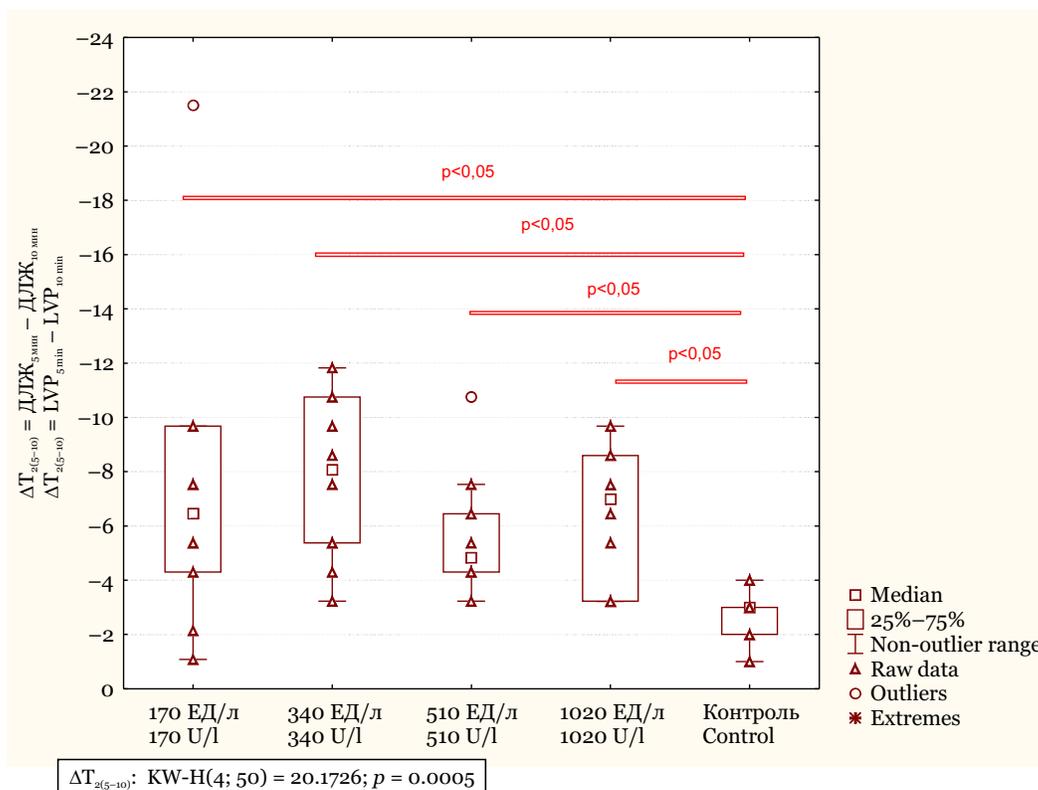


Рис. 3. Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 10-й минуте перфузии $\Delta T_{2(5-10)}$
Fig. 3. The difference in changes of the LVP in the experimental and control groups at the 10th minute of perfusion ($\Delta T_{2(5-10)}$)

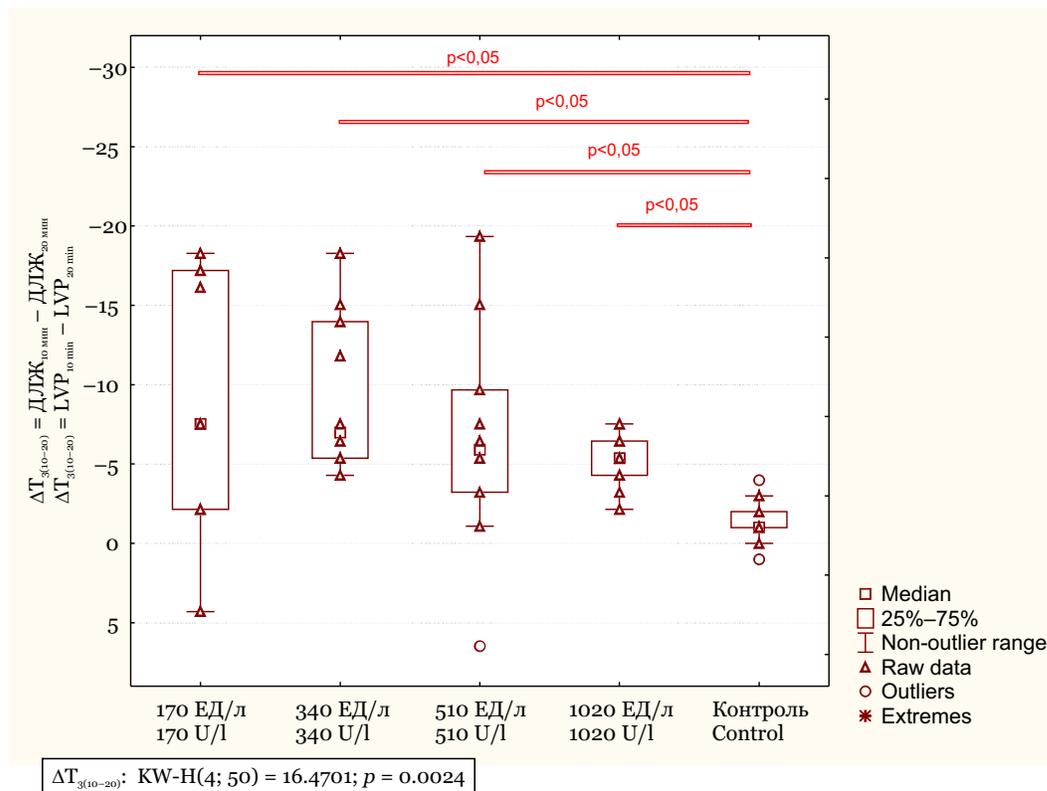


Рис. 4. Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 20-й минуте перфузии $\Delta T_{3(10-20)}$
Fig. 4. The difference in the LVP in the experimental and control groups at the 20th minute of perfusion ($\Delta T_{3(10-20)}$)

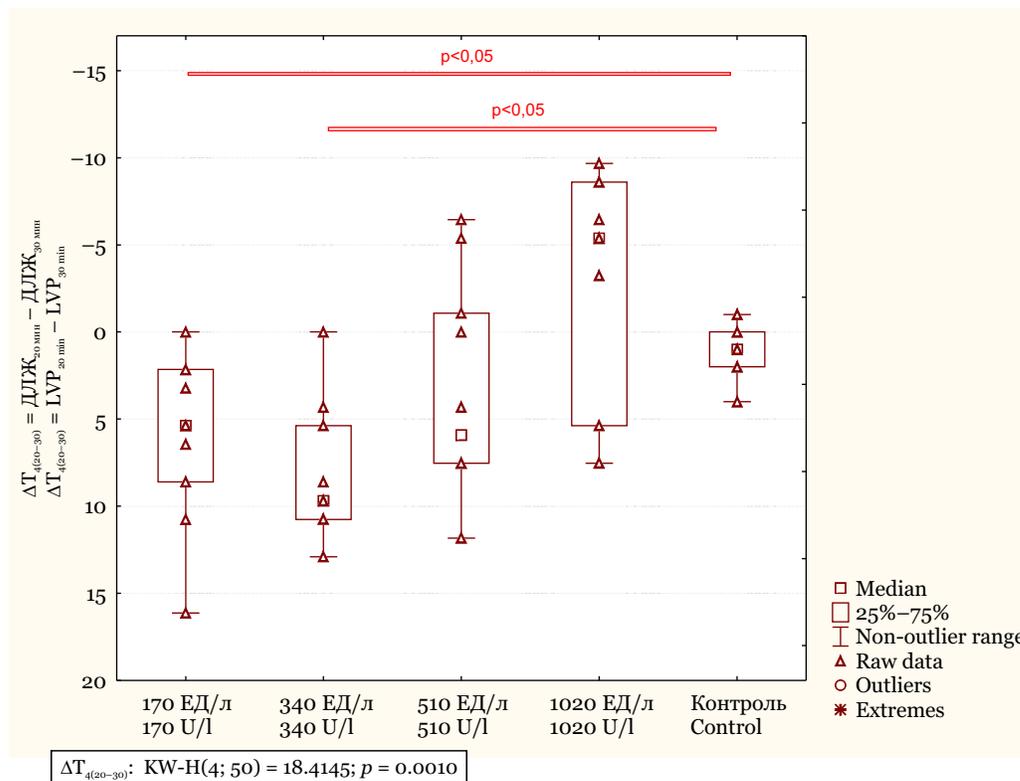


Рис. 5. Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 30-й минуте перфузии $\Delta T_{4(20-30)}$
Fig. 5. The difference in changes of the LVP in the experimental and control groups at the 30th minute of perfusion ($\Delta T_{4(20-30)}$)

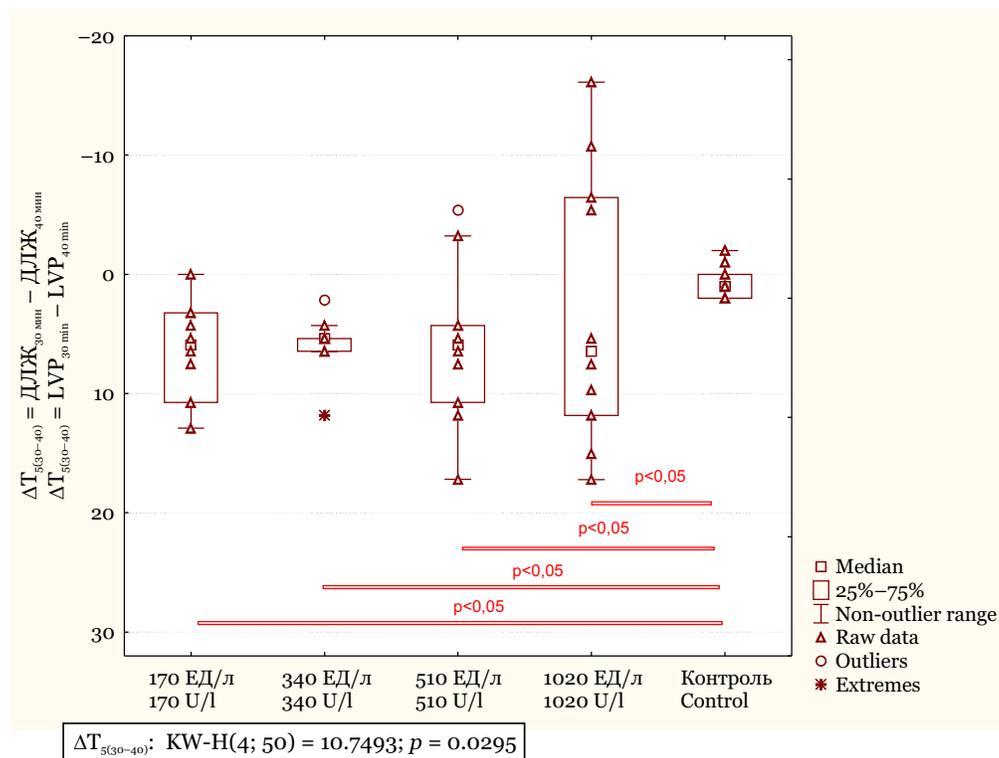


Рис. 6. Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 40-й минуте перфузии $\Delta T_{5(30-40)}$
Fig. 6. The difference in changes of the LVP in the experimental and control groups at the 40th minute of perfusion ($\Delta T_{5(30-40)}$)

свидетельствовало об ослаблении инотропного действия ИмС и возврате ДЛЖ к исходным значениям (рис. 6). При этом значения ДЛЖ (см. табл. 1, рис. 1) во всех группах оставались выше значений ДЛЖ в контрольной группе.

На диаграмме, представленной на рис. 7, отражена динамика прироста ДЛЖ при перфузии ИмС и контрольным раствором Кребса – Хензелята в течение всего времени эксперимента. Все концентрации ИмС имеют прирост ДЛЖ по сравнению с группой контроля ($p < 0.05$).

Таким образом, перфузия изолированного сердца раствором иммобилизованных субтилизинов увеличивает давление в левом желудочке, что, в свою очередь, свидетельствует об обусловливаемом ими положительном инотропном эффекте. Начало эффекта зависит от концентрации ИмС в растворе. При концентрации 170 ЕД/л увеличение давления в левом желудочке обнаруживается с 10-й минуты, при более высоких концентрациях – с 5-й минуты. Длительность нарастания эффекта при применении ИмС в диапазоне доз 170–510 ЕД/л проявляется до 20-й минуты, а при использовании дозы 1020 ЕД/л – до 30-й минуты. Затем отмечается уменьшение этого эффекта. При применении ИмС в дозе 170 ЕД/л на 40-й минуте отмечается

в дозе 170–510 U/l is manifested up to the 20th minute, and when using a dose of 1020 U/l – up to the 30th minute. Then there is a decrease in this effect. When using ISs at a dose of 170 U/l, at the 40th minute the left ventricle pressure indicators return to the baseline values, which are comparable with the indicators of the LVP of the control group at the 40th minute of the experiment. In groups of animals with perfusion of ISs at concentrations of 340–1020 U/l, there is a decrease in the LVP by the 40th minute, but the values of this parameter remain higher than in the control group.

CONCLUSION

The data of the study demonstrate a positive inotropic effect of the isolated heart perfusion with ISs (thrombolytic drug, Trombovasim). The inotropic effect is dose-dependent at various time points. The positive inotropic effect combined with the direct thrombolytic effect of ISs makes it possible not only to prevent a decrease in cardiac output, but also to realize its increase in the setting of a regional (coronary) circulation accident caused by a critical event, for example, myocardial infarction.

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

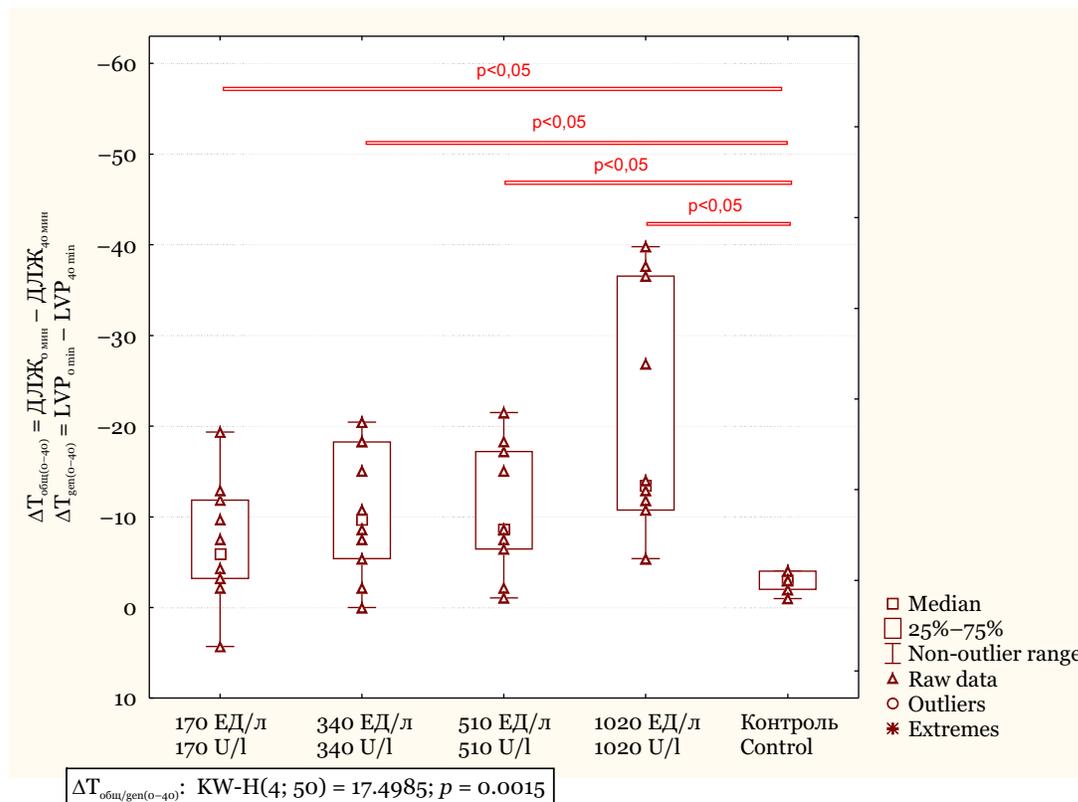


Рис. 7. Динамика изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах в течение всего времени эксперимента $\Delta T_{\text{ген}(0-40)}$
Fig. 7. Dynamics of changes in the LVP in the experimental and control groups during the entire time of the experiment ($\Delta T_{\text{ген}(0-40)}$)

возврат показателей давления в левом желудочке к исходным значениям, которые сравнимы с показателями ДЛЖ контрольной группы на 40-й минуте эксперимента. В группах животных с перфузией ИмС в концентрациях 340–1020 ЕД/л отмечается снижение ДЛЖ к 40-й минуте, но значения этого показателя остаются выше по сравнению с контрольной группой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные проведенного исследования демонстрируют положительный инотропный эффект перфузии изолированного сердца ИмС (тромболи-

тический лекарственный препарат Тромбовазим). Инотропный эффект имеет дозозависимый характер в различных временных точках. Положительный инотропный эффект в совокупности с прямым тромболитическим действием ИмС дает возможность не только профилактировать снижение сердечного выброса, но и реализовать его увеличение на фоне катастрофы регионарного (коронарного) кровообращения, вызванной критическим инцидентом, например инфарктом миокарда.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Киншт Д.Н., Киктенко Н.В. Химические и фармакологические свойства субтилизинов // Сиб. науч. мед. журн. 2016;36(3):13–22.
2. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Киншт Д.Н., Киктенко Н.В. Таргетная фармакодинамика субтилизинов // Сиб. науч. мед. журн. 2016;36(4):15–23.
3. Мишенина С.В., Байкалов Г.И., Байкалова Н.Е., Макаров В.К., Мадонов П.Г. Обоснование применения иммобилизованных субтилизинов для таргетной терапии венозных тромбозов // Journal

REFERENCES

1. Madonov P.G., Mishenina S.V., Kinsht D.N., Kikhtenko N.V. Chemical and pharmacological properties of subtilisins. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2016;36(3):13–22.
2. Madonov P.G., Mishenina S.V., Kinsht D.N., Kikhtenko N.V. Targeted pharmacodynamic of subtilisins. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2016;36(4):15–23.
3. Mishenina S.V., Baikalov G.I., Baikalova N.E., Makarov V.K., Madonov P.G. A rationale for application of immobilized subtilisiny for target therapy of

- of Siberian Medical Sciences. 2020;1:76–88. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-1-76-88.
4. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Ройтман Е.В., Ищенко Н.А. Фармакологический тромболитик: что нового? // Тромбоз, гемостаз и реология. 2020;2(82):40–52. DOI: 10.25555/THR.2020.2.0917.
 5. 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.
 6. Olejníčková V., Nováková M., Provazník 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.
 7. 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.
 8. Капелько В.И. Участие активных форм кислорода в саморегуляции сократительной функции сердца // Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАН. 2016;1(3):155–159.
 9. Князев Р.А., Трифонова Н.В., Рябченко А.В. и др. Исследование влияния рекомбинантного аполипопротеина А-I на работу сердечной мышцы в эксперименте // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2018;22(4):88–94. DOI: 10.21688/1681-3472-2018-4-88-94.
 10. Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Грамович В.В. и др. Сократительная функция изолированных сердец с сохраненной и сниженной фракцией изгнания in vivo // Кардиология. 2018;58(4):36–44. DOI: 10.18087/cardio.2018.4.10107.
 11. Минасян С.М., Галагудза М.М., Сонин Д.Л. и др. Методика перфузии изолированного сердца крысы // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2009;8(4):54–59. eLIBRARY ID: 15194884.
- venous thrombosis. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020;1:76–88. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-1-76-88.
4. Madonov P.G., Mishenina S.V., Roitman E.V., Ishchenko N.A. Pharmacological thrombolysis: what's new? *Thromboz, Gemostaz, Reologia*. 2020;2(82):40–52. DOI: 10.25555/THR.2020.2.0917.
 5. 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.
 6. Olejníčková V., Nováková M., Provazník 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.
 7. 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.
 8. Kapelko V.I. Participation of reactive oxygen species in the self-regulation of the cardiac contractile function. *Bull. of the East-Sib. Scientific Center*. 2016;1(3):155–159.
 9. Knyazev R.A., Trifonova N.V., Ryabchenko A.V. et al. Impact of recombinant apolipoprotein A-I on myocardial function in experiment. *Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2018;22(4):88–94. DOI: 10.21688/1681-3472-2018-4-88-94.
 10. Lakomkin V.L., Abramov A.A., Gramovich V.V. et al. Contractile function of isolated hearts with preserved and reduced ejection fraction in vivo. *Kardiologiya*. 2018;58(4):36–44. DOI: 10.18087/cardio.2018.4.10107.
 11. Minasian S.M., Galagudza M.M., Sonin D.L. et al. The technique of isolated rat heart perfusion. *Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2009;8(4):54–59. eLIBRARY ID: 15194884.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Байкалов Герман Игоревич – ординатор кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-5445-9920.

Леонов Николай Петрович – старший научный сотрудник лаборатории фармацевтической технологии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-4364-8937.

Мадонов Павел Геннадьевич – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государствен-

ABOUT THE AUTHORS

German I. Baikalov – Resident, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5445-9920.

Nikolay P. Leonov – Senior Researcher, Laboratory of Pharmaceutical Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology; Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia.

Pavel G. Madonov – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Head, Department of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1093-8938.

ный медицинский университет» Минздрава России; руководитель отдела экспериментальной фармакологии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1093-8938.

Ершов Константин Игоревич – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; старший научный сотрудник лаборатории фармацевтической технологии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-4139-036X.

Бахарева Ксения Игоревна – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-2054-1659.

Солдатова Марина Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-1050-6921.

Konstantin I. Ershov – Cand. Sci. (Bio.), Associate Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Senior Researcher, Laboratory of Pharmaceutical Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4139-036X.

Kseniya I. Bakhareva – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2054-1659.

Marina S. Soldatova – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-1050-6921.

