УДК 616.24-005.6-092.4: 615.272:615.272.52
DOI 10.31684/25418475_2022_1_43

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ТРОМБОЛИТИКА НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ СУБТИЛИЗИНОВ И АНТИКОАГУЛЯНТА НА ОСНОВЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГЕПАРИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТРОМБОЗА СОСУДОВ ЛЕГКИХ ПРИ COVID-19

[1]Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск
[2]Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск

Чурин А.А.[1], Фёдорова Е.П.[1], Фомина Т.И.[1], Филонова М.В.[1], Ершов К.И.[2], Леонов Н.П.[2], Байкалов Г.И.[2], Бахарева К.С.[2], Мадонов П.Г.[2]

Резюме. *При заболевании COVID-19 очень высокий риск развития тромбоза сосудов лёгких. Целью проведённого исследования было представить экспериментальное обоснование возможности применения лекарственного препарата (ЛП) перорального тромболитика Тромбовазим, ЛП низкомолекулярного гепарина Эноксапарин натрия и их совместного введения при COVID-19 посредством оценки исходов легочного тромбоза у лабораторных животных. Исследование выполнено на мышах-самцах линии CD I. Для получения модели легочного тромбоза вводили тромбопластин в дозе 10 мг/кг. Факт образования лёгочного тромбоза подтверждался морфологически. ЛП Тромбовазим (350 Ед/кг) и ЛП Эноксапарин натрия (10 мг/кг) вводили в профилактическом и лечебном режимах. ЛП Тромбовазим вводился внутрижелудочно 0,5 мл (8 ЕД), Эноксапарин натрия вводился инъекционно подкожно 10 мг/кг/сут – 0,2 мг/мышь. В профилактическом режиме исследуемые препараты вводили утром, а затем через 4 часа вводили тромбопластин. В лечебном режиме вводили тромбопластин, а затем исследуемые препараты. В контрольной группе животных, получавших один тромбопластин, наблюдалась гибель 40% животных. В профилактическом режиме как при совместном применении ЛП Тромбовазима и ЛП Эноксапарина натрия, так и при применении только ЛП Эноксапарина натрия гибели животных не наблюдалось. В лечебных режимах при применении ЛП Эноксапарина натрия, а также при применении ЛП Тромбовазима выявлена гибель и в одной, и в другой группе по 1 животному. В лечебной группе при совместном применении ЛП Тромбовазима и ЛП Эноксапарина натрия гибели животных не наблюдалось.*
Ключевые слова: *экспериментальный тромбоз, иммобилизированные субтилизины, антикоагулянты, Тромбовазим, Эноксапарин натрия.*

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE USE OF AN ORAL THROMBOLYTIC BASED ON IMMOBILIZED SUBTILISIN AND AN ANTICOAGULANT BASED ON LOW-MOLECULAR-WEIGHT HEPARIN FOR TREATING PULMONARY VASCULAR THROMBOSIS IN COVID-19

[1]E.D. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk
[2]Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology - Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk

A.A. Churin[1], E.P. Fedorova[1], T.I. Fomina[1], M.V. Filonova[1], K.I. Ershov[2], N.P. Leonov[2], G.I. Baikalov[2], K.S. Bakhareva[2], P.G. Madonov[2]

Summary. *In COVID-19 there is a very high risk of pulmonary vascular thrombosis.*
This study presented an experimental substantiation of the possibility of using the oral thrombolytic drug (LP) Thrombovazim, LP of low-molecular-weight heparin Enoxaparin sodium and their combined administration in COVID-19 by evaluating the outcomes of pulmonary thrombosis in laboratory animals. The study was conducted

on male CD I mice. Thromboplastin at a dose of 10 mg/kg administered to produce a model of pulmonary thrombosis. The fact of pulmonary thrombosis formation was confirmed morphologically. LP Thrombovasim (350 units/kg) and LP Enoxaparin sodium (10 mg/kg) were administered in prophylactic and therapeutic regimens. LP Trombovazim was injected intragastrically 0.5 ml (8 units), enoxaparin sodium was injected subcutaneously 10 mg/kg/day - 0.2 mg/mouse. In the prophylactic mode, the drugs under study were injected in the morning, and then thromboplastin was administered 4 hours later. In the therapeutic regimen, thromboplastin was administered, followed by the study drugs. In the control group of animals that received a single thromboplastin, there was 40% death of the animals. No animal death was observed in the prophylactic regimen both with combined use of LP Thrombovasim and LP Enoxaparin sodium, or with the use of LP Enoxaparin sodium alone. In the treatment regimens with Enoxaparin sodium LP, as well as with Trombovasim LP, 1 animal death was detected in each group. No animal death was observed in the treatment group when Enoxaparin sodium LP and Trombovazim LP were used together.

Keywords: *experimental thrombosis, immobilized subtilisins, anticoagulants, Thrombovazim, Enoxaparin sodium.*

С самого начала пандемии COVID-19 установлено, что тяжёлое течение этого заболевания во многом обусловлено развитием тромбоза сосудистого русла лёгких. Это отражено во всех версиях временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» и в ряде научных публикаций с соответственными протоколами антитромботической терапии [1-4]. В зарубежных и отечественных публикациях детально исследованы механизмы тромбообразования при COVID-19. Отмечено, что тромбоз возникает не только в крупных магистральных сосудах, но и в системе микроциркуляции. Микротромбоз (MicroCLOTS) малого круга кровообращения может быть ведущей причиной COVID-19-ассоциированного респираторного дистресс-синдрома [5]. Изучены ведущие этиологические факторы COVID-19-ассоциированного тромбоза [6-7]. Во многих публикациях приводятся убедительные доказательства связи новой коронавирусной инфекции и развития кардиоваскулярной патологии у больных COVID-19 [8-12]. Появились публикации о связи вакцинопрофилактики от COVID-19 с развитием тромботических осложнений [13]. В исследовании [14] авторы использовали данные из электронных медицинских карт 46 миллионов взрослых, из которых 21 миллион были вакцинированы во время исследования, и сравнили частоту венозных и артериальных событий до и после первой вакцинации вакциной от COVID-19 Vaxzevria (ChAdOx1-S). У людей моложе 70 лет частота госпитализаций из-за внутричерепного венозного тромбоза или из-за тромбоцитопении была выше после вакцинации ChAdOx1-S. Частота внутричерепного венозного тромбоза и тромбоцитопении у взрослых в возрасте до 70 лет была выше через 1–28 дней после ChAdOx1-S (HR 2,27, 95% ДИ: 1,33–3,88 и 1,71, 1,35–2,16 соответственно). Таким образом, патологическое тромбообразование при COVID-19 становится одним из решающих факторов исхода данного заболевания, значимым фактором риска развития осложнений.

Исходя из вышесказанного, становится очевидным, патогенетическое лечение COVID-19 должно включать в себя антитромботическую терапию, как в формате антикоагулянтной профилактики, так и тромболитической терапии. Антикоагулянтная терапия обеспечивается достаточно большим реестром парентеральных препаратов и высокоэффективными пероральными средствами. Тромболитическая терапия представляет собой большую проблему, ввиду того обстоятельства, что подавляющее большинство тромболитиков – это активаторы плазминогена, введение которых сопряжено с большим риском геморрагических осложнений. Между тем, существует альтернатива активаторам плазминогена в виде прямого тромболитического препарата на основе иммобилизированных субтилизинов. В России зарегистрирован лекарственный препарат Тромбовазим в качестве тромболитика для лечения острого инфаркта миокарда (лиофилизат для инфузии) и для лечения венозной недостаточности (капсулы для приёма внутрь). Основой фармакодинамики Тромбовазима является прямое фибринолитическое действие на фибриновый каркас и прямое протеолитическое на клеточно-белковый детрит тромба. Фармакологически активным ингредиентом ЛП ТРБ является протеиназа - субтилизин. Субтилизин имеет молекулярную массу ≈ 30 кДа, что существенно превышает порог аллергогенности и может вызывать нежелательные побочные эффекты аллергического и иммунотоксического характера. Для преодоления аллергогенности и иммунотоксичности субтилизина была применена уникальная технология его иммобилизации на полиэтиленоксиде (ПЭГ) посредством электронно-лучевого воздействия потоком ускоренных электронов в ускорителе ИЛУ-10, производства Института ядерной физики им. Будкера СО РАН. В результате образуется ПЭГ-субтилизиновый конъюгат, который экранирует субтилизин от рецепторного контакта с иммунокомпетентными клетками, но при этом сохраняет его

специфическую ферментативную активность в части гидролиза пептидных связей белковых структур. Более того, ПЭГ-субтилизиновый конъюгат приобретает дополнительные фармакокинетические свойства, а именно, достаточно высокую для белковых молекул энтеральную биодоступность (18 %). В ранее проведённых исследованиях было показано, что Тромбовазим демонстрирует высокую тромболитическую эффективность в экспериментальных и клинических исследованиях [15-17].

В проведённом исследовании провели сравнение нескольких режимов антитромботической терапии с применением лекарственных препаратов Тромбовазим и Эноксапарин натрия. Эноксапарин натрия – широко известный антикоагулянт из группы низкомолекулярных гепаринов, применяется для лечения и профилактики тромботических заболеваний. In vitro Эноксапарин натрия обладает высокой активностью в отношении фактора Ха свертывания крови (анти-Ха активность примерно 100 МЕ/мл) и низкой активностью в отношении фактора IIа свертывания (анти-IIа или антитромбиновая активность примерно 28 МЕ/мл). Эта антикоагулянтная активность опосредована антитромбином III (АТ-III). Кроме анти-Ха/IIа активности также выявлены дополнительные антикоагулянтные и противовоспалительные свойства Эноксапарина натрия как у человека, так и на моделях животных, которые включают АТ-III зависимое ингибирование других факторов свертывания, таких как фактор Va, активацию высвобождения ингибитора пути тканевого фактора, а также снижение высвобождения фактора Виллебранда из эндотелия сосудов в кровоток. Эти факторы обеспечивают антикоагулянтный эффект Эноксапарина натрия в целом.

Цель исследования: показать преимущество сочетанного введения ЛП Тромбовазим и ЛП Эноксапарин натрия перед введением только ЛП Эноксапарин натрия в отношении показателей летальности на модели генерализованного тромбоза.

Задачи исследования:

1. Сравнить параметры летальности двух групп экспериментальных животных при однократном профилактическом введении ЛП Тромбовазим и ЛП Эноксапарин натрия и только ЛП Эноксапарин натрия
2. Сравнить параметры летальности двух групп экспериментальных животных при лечебном введении в течение 10 дней ЛП Тромбовазим и ЛП Эноксапарин натрия и только ЛП Эноксапарин натрия.

Таблица 1

Дизайн исследования

Исследуемые группы, (количество животных)	**Дни эксперимента, введение препаратов**									
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
1. Контрольная, (n=10)	ТПЛ									
2. Профилактическое введение, (n=10)	ТРБ, ЭНП, через 4 ч. ТПЛ									
3. Профилактическое введение, (n=10)	ЭНП, через 4 ч. ТПЛ									
4. Лечебное введение, (n=10)	ТПЛ, ТРБ, ЭНП	ТРБ ЭНП	ТРБ ЭНП	ТРБ ЭНП	ТРБ ЭНП	ТРБ ЭНП	ТРБ ЭНП	ТРБ ЭНП	ТРБ ЭНП	ТРБ ЭНП
5. Лечебное введение, (n=10)	ТПЛ, ЭНП	ЭНП	ЭНП	ЭНП	ЭНП	ЭНП	ЭНП	ЭНП	ЭНП	ЭНП
6. Лечебное введение, (n=10)	ТПЛ, ТРБ	ТРБ	ТРБ	ТРБ	ТРБ	ТРБ	ТРБ	ТРБ	ТРБ	ТРБ

Примечание: ТПЛ – тромбопластин в/в однократно; ТРБ – Тромбовазим per/os 2 раза в сутки (лечебный режим введения), ЭНП – Эноксапарин натрия п/к 1 раз в сутки. В каждый день эксперимента контроль летальности во всех группах.

Материалы и методы.

Дизайн исследования (табл.1). Экспериментальное сравнительное исследование в параллельных группах по количеству летальных исходов сочетанного введения ЛП Тромбовазим (ЛП ТРБ) и ЛП Эноксапарин натрия (ЛП ЭНП) против введения только ЛП ЭНП. Исследования были выполнены согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая /Под. общей редакцией Миронова А.Н. – М.: Гриф и К, 2013. – 944 с; «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (утв. Приказом Минздрава РФ № 199н от 01 апреля 2016 г.)

Животные. Вид: Mus musculus. Линия/Сток: мыши – CDI конвенциональной категории качества. Поставщик: отдел экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (имеется сертификат здоровья лабораторных животных). Возраст к началу введения: 7-8 недель. Масса к началу введения: 22-28 г. Количество мышей: 60 самцов. Животные содержались в отдельных комнатах вивария, принадлежащих лаборатории лекарственной токсикологии НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга и кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России. Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986); ГОСТ 33216-2014 Межгосударственный стандарт. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными; Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами от 2016-07-01; ГОСТ 33215-2014 Межгосударственный стандарт. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур от 2016-07-01.

Было сформировано 6 экспериментальных групп.

1 группа – контрольная (10 животных). В первый день эксперимента предварительно наркотизированным животным в вену хвоста было однократно введено 10 мг/кг тромбопластина («Технология-стандарт», Россия), далее - ТПЛ. Была отслежена продолжительность жизни каждого животного.

2 группа – профилактическое введение (10 животных). В первый день эксперимента животным было осуществлено интрагастральное через зонд введение ЛП ТРБ в дозе 350 Ед/кг и подкожная инъекция ЛП ЭНП в дозе 10 мг/кг. Через 4 часа (время достижения максимальной концентрации в крови ЛП ТРБ и ЛП ЭНП) предварительно наркотизированным животным в вену хвоста было однократно введено 10 мг/кг ТПЛ. Отслеживалась продолжительность жизни каждого животного.

3 группа – профилактическое введение (10 животных). В первый день эксперимента животным была осуществлена подкожная инъекция ЛП ЭНП в дозе 10 мг/кг. Через 4 часа (время достижения максимальной концентрации ЛП ЭНП) предварительно наркотизированным животным в вену хвоста однократно вводилось 10 мг/кг ТПЛ. Была отслежена продолжительность жизни каждого животного.

4 группа – лечебное введение (10 животных). В первый день эксперимента предварительно наркотизированным животным в вену хвоста однократно вводилось 10 мг/кг ТПЛ. Затем было осуществлено интрагастральное через зонд введение ЛП ТРБ в дозе 350 Ед/кг и подкожная инъекция ЛП ЭНП в дозе 10 мг/кг. Введение ЛП ТРБ и ЛП ЭНП осуществлялось каждый день в одно и то же время. Была отслежена продолжительность жизни каждого животного.

5 группа – лечебное введение (10 животных). В первый день эксперимента предварительно наркотизированным животным в вену хвоста однократно вводилось 10 мг/кг ТПЛ. Затем осуществлялось подкожная инъекция ЛП ЭНП в дозе 10 мг/кг. Введение ЛП ЭНП осуществлялось каждый день в одно и то же время. Была отслежена продолжительность жизни каждого животного.

6 группа - лечебное введение (10 животных). В первый день эксперимента предварительно наркотизированным животным в вену хвоста однократно вводилось 10 мг/кг ТПЛ. Затем было осуществлено интрагастральное через зонд введение ЛП ТРБ дозе 350 Ед/кг. Введение Тромбовазима осуществлялось каждый день в одно и то же время. Была отслежена продолжительность жизни каждого животного.

Исследуемые препараты

1. Раствор фармацевтической субстанции ЛП ТРБ (растворитель NaCl 0,9%) вводился внутрижелудочно с помощью металлических зондов с оливой на конце. Приготовление раствора производилось в день эксперимента в максимально короткий срок перед введением. Объём на одно введение составил 0,5 мл (8 ЕД) из расчёта 350 Ед/кг.

2. ЛП ЭНП вводился инъекционно подкожно. Доза препарата на каждое животное была 10 мг/кг/сут – 0,2 мг/мышь. Для данного эксперимента были взяты ампулы с раствором для инъекций ЛП ЭНП («Эниксум», ЗАО «ФармФирма «Сотекс», Россия) из расчёта масса/объём: 40 мг - 0,4 мл (4000 анти-ХаМЕ). Ампула вскрывалась в день эксперимента в максимально короткий срок перед введением препарата. Из ампулы с использованием «инсулинового» шприца извлекалось 0,2 мл (20 мг) раствора ЛП ЭНП, вводилось в 100 мл р-ра NaCl 0,9% (полиэтиленовый флакон/контейнер) и осторожно пе-

ремешивалось без встряхивания. Каждому животному «инсулиновым» шприцем вводилось 0,2 мл (0,2 мг) подкожно.

Факт развития системного тромбоза подтверждался морфологическим изучением лёгких

Результаты и обсуждение

В таблице 2 представлены результаты экспериментов в контрольной и опытных группах. На модели генерализованного тромбоза и морфологически подтверждённого в сосудах лёгких, наблюдалась гибель животных как в контрольной группе, так и в экспериментальных группах (табл. 2). В контрольной группе животных, которым однократно внутривенно вводили тромбопластин отмечалась гибель трех самцов в течение 30 минут после введения и одного самца через 24 часа после введения (рис. 1, табл. 2).

Рисунок 1. Летальность животных в контрольной группе

В профилактической группе, где проводилось введение ЛП ТРБ однократно внутрижелудочно и ЛП ЭНП однократно подкожно, затем через 4 часа введение тромбопластина внутривенно однократно, гибели мышей не наблюдалось (табл. 2). В профилактической группе, где проводилось введение ЛП ЭНП подкожно однократно, затем через 4 часа введение тромбопластина внутривенно однократно, гибели животных не наблюдалось (табл.2).

В лечебной группе, где животным после внутривенного однократного введения тромбопластина вводили в течение 10 дней ЛП ЭНП подкожно, отмечалась гибель одного самца в течение 30 минут после применения препаратов (рис. 2, табл. 2).

Рисунок 2. Летальность животных в группе введения ЛП ЭНП подкожно в течение 10 дней

В лечебной группе, где животным после внутривенного однократного введения тромбопластина вводили в течение 10 дней ЛП ТРБ перорально, отмечалась гибель одного самца через 3 часа после применения препаратов (рис. 3, табл. 2).

Рисунок 3. Летальность животных в группе введения ЛП ТРБ перорально в течение 10 дней

В лечебной группе, где животным после внутривенного однократного введения тромбопластина вводили в течение 10 дней ЛП ЭНП подкожно и ЛП ТРБ двукратно (интервал 6 часов), гибели животных не наблюдалось (рис. 4, табл. 2).

Рисунок 4. Летальность животных в группе введения ЛП ЭНП подкожно и ЛП ТРБ перорально в течение 10 дней

Таблица 2

Гибель лабораторных животных с экспериментальной моделью системного тромбоза после применения ЛП ТРБ и ЛП ЭНП в разных режимах введения

Исследуемые группы, (количество животных)	Препарат, схема введения	Погибло животных/ гибель (час) от начала введения ТПЛ									
		1 сут	2 сут	3 сут	4 сут	5 сут	6 сут	7 сут	8 сут	9 сут	10 сут
1. Контроль, (n=10)	ТПЛ	3/0 час	1/24	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Профилактическое введение (n=10)	ТРБ, ЭНП, ТПЛ через 4 часа	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Профилактическое введение (n=10)	ЭНП, ТПЛ через 4 часа	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Лечебное введение (n=10)	ТПЛ, ТРБ, ЭНП	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Лечебное введение (n=10)	ТПЛ, ЭНП	1/0 час	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6. Лечебное введение (n=10)	ТПЛ, ТРБ	1/3 час	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Примечание: ТПЛ – тромбопластин в/в однократно; ТРБ – Тромбовазим п/о 2 раза в сутки (лечебная группа), ЭНП – Эноксапарин п/к 1 раз в сутки.

В каждый день эксперимента контроль летальности во всех группах.

Выводы

На модели генерализованного тромбоза с морфологически подтверждённым тромбозом сосудов лёгких совместное введение препаратов Тромбовазим и Эноксапарин натрия в течение 10 суток эксперимента обеспечивает выживание всех животных. В контрольной группе без введения препаратов летальность составляет 40%.

Профилактическое введение препаратов Тромбовазим и Эноксапарин натрия на модели генерализованного тромбоза с морфологически подтверждённым тромбозом сосудов лёгких в течение 10 суток эксперимента обеспечивает выживание 90% животных. В контрольной группе без введения препаратов летальность составляет 40%.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы:

1. Ройтман Е.В., Маркин С., Кравцов П., Мазайшвили К.В. Изменение отношения врачей к антикоагулянтной терапии при новой коронавирусной инфекции в 2021 году. Тромбоз, гемостаз и реология. 2021;4:53-60.

2. Razi M, Gu J, He X, Kong J, Ahmed MJ. Venous thromboembolism in patients with COVID-19. A prevalent and a preventable complication of the pandemic. J Interv Med. 2021 May;4(2):62-65. doi: 10.1016/j.jimed.2021.02.006. Epub 2021 Feb 26. PMID: 34557323; PMCID: PMC7908849.

3. Seeherman S, Suzuki YJ. Viral Infection and Cardiovascular Disease: Implications for the Molecular Basis of COVID-19 Pathogenesis. Int J Mol Sci. 2021 Feb 7;22(4):1659. doi: 10.3390/ijms22041659. PMID: 33562193; PMCID: PMC7914972.

4. Schulman S, Hu Y, Konstantinides S. Venous Thromboembolism in COVID-19. Thromb Haemost. 2020 Dec;120(12):1642-1653. doi: 10.1055/s-0040-1718532. Epub 2020 Oct 24. PMID: 33099284; PMCID: PMC7869046.

5. Ciceri F, Beretta L, Scandroglio AM, Colombo S, Landoni G, Ruggeri A, Peccatori J, D'Angelo A, De Cobelli F, Rovere-Querini P, Tresoldi M, Dagna L, Zangrillo A.Ciceri F, et al. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. Crit Care Resusc. 2020 Apr 15. Online ahead of print.Crit Care Resusc. 2020. PMID: 32294809.

6. Escher R, Breakey N, Lämmle B. Severe COVID-19 infection associated with endothelial

activation. Thromb Reserch. 2020 Apr 15;190:62. doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.014.

7. Mackman N, Grover SP, Antoniak S. Tissue factor expression, extracellular vesicles, and thrombosis after infection with the respiratory viruses influenza A virus and coronavirus. J Thromb Haemost. 2021 Nov;19(11):2652-2658. doi: 10.1111/jth.15509. Epub 2021 Sep 3. PMID: 34418279.

8. Tufano A, Rendina D, Abate V, Casoria A, Marra A, Buonanno P, Galletti F, Di Minno G, Servillo G, Vargas M. Venous Thromboembolism in COVID-19 Compared to Non-COVID-19 Cohorts: A Systematic Review with Meta-Analysis. J Clin Med. 2021 Oct 25;10(21):4925. doi: 10.3390/jcm10214925. PMID: 34768445; PMCID: PMC8584903.

9. Stein LK, Mayman NA, Dhamoon MS, Fifi JT. The emerging association between COVID-19 and acute stroke. Trends Neurosci. 2021 Jul;44(7):527-537. doi: 10.1016/j.tins.2021.03.005. Epub 2021 Apr 8. PMID: 33879319; PMCID: PMC8026270.

10. Voicu S, Ketfi C, Stépanian A, Chousterman BG, Mohamedi N, Siguret V, Mebazaa A, Mégarbane B, Bonnin P. Pathophysiological Processes Underlying the High Prevalence of Deep Vein Thrombosis in Critically Ill COVID-19 Patients. Front Physiol. 2021 Jan 8;11:608788. doi: 10.3389/fphys.2020.608788. PMID: 33488398; PMCID: PMC7820906.

11. Ishigami J, Kou M, Ding N, Matsushita K. Cardiovascular Disease and Coronavirus Disease 2019: Epidemiology, Management, and Prevention. Curr Epidemiol Rep. 2021 Jan 2:1-8. doi: 10.1007/s40471-020-00261-2. Epub ahead of print. PMID: 33425654; PMCID: PMC7778411.

12. Khan MS, Shahid I, Anker SD, Solomon SD, Vardeny O, Michos ED, Fonarow GC, Butler J. Cardiovascular implications of COVID-19 versus influenza infection: a review. BMC Med. 2020 Dec 18;18(1):403. doi: 10.1186/s12916-020-01816-2. PMID: 33334360; PMCID: PMC7746485.

13. Sharifian-Dorche M, Bahmanyar M, Sharifian-Dorche A, Mohammadi P, Nomovi M, Mowla A. Vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia and cerebral venous sinus thrombosis post COVID-19 vaccination; a systematic review. J Neurol Sci. 2021 Sep 15;428:117607. doi: 10.1016/j.jns.2021.117607. Epub 2021 Aug 3. PMID: 34365148; PMCID: PMC8330139.

14. Whiteley WN, Ip S, Cooper JA, Bolton T, Keene S, et al. (2022) Association of COVID-19 vaccines ChAdOx1 and BNT162b2 with major venous, arterial, or thrombocytopenic events: A population-based cohort study of 46 million adults in England. PLOS Medicine 19(2): e1003926. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003926

15. Мадонов П.Г., Момот А.П., Мамаев А.Н., Ройтман Е.В., Мишенина С.В. Неплазминовый фибринолиз субтилизинами. Тромбоз, гемостаз и реология. 2019;3(79):24-32.doi.org/10.25555/THR.2019.3.0886.

16. Pavel Madonov, Stanialav Leont'ev, Sergey Zotov, Maksim Ufimtsev, Svetlana Mishenina, Dmitrii Kinsht Initial Results of Oral Thrombolytic Agent Clinical Application. Proceedings 2018; 2(9): 530; https://doi.org/10.3390/proceedings 2090530.

17. Артамонов А.В., Бекарев А.А., Киншт Д.Н., Мадонов П.Г., Мишенина С.В. Патент RU 2613155 от 25.05.2016. Способ лечения больных с острыми тромбозами венозного русла нижних конечностей.

References

1. Roitman E.V., Markin S., Kravtsov P., Mazayshvili K.V. Changing attitudes of physicians to anticoagulant therapy in new coronavirus infection in 2021. Thrombosis, Hemostasis, and Rheology. 2021;4:53-60. (In Russ.)

2. Razi M, Gu J, He X, Kong J, Ahmed MJ. Venous thromboembolism in patients with COVID-19. A prevalent and a preventable complication of the pandemic. J Interv Med. 2021 May;4(2):62-65. doi: 10.1016/j.jimed.2021.02.006. Epub 2021 Feb 26. PMID: 34557323; PMCID: PMC7908849.

3. Seeherman S, Suzuki YJ. Viral Infection and Cardiovascular Disease: Implications for the Molecular Basis of COVID-19 Pathogenesis. Int J Mol Sci. 2021 Feb 7;22(4):1659. doi: 10.3390/ijms22041659. PMID: 33562193; PMCID: PMC7914972.

4. Schulman S, Hu Y, Konstantinides S. Venous Thromboembolism in COVID-19. Thromb Haemost. 2020 Dec;120(12):1642-1653. doi: 10.1055/s-0040-1718532. Epub 2020 Oct 24. PMID: 33099284; PMCID: PMC7869046.

5. Ciceri F, Beretta L, Scandroglio AM, Colombo S, Landoni G, Ruggeri A, Peccatori J, D'Angelo A, De Cobelli F, Rovere-Querini P, Tresoldi M, Dagna L, Zangrillo A.Ciceri F, et al. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. Crit Care Resusc. 2020 Apr 15. Online ahead of print.Crit Care Resusc. 2020. PMID: 32294809.

6. Escher R, Breakey N, Lämmle B. Severe COVID-19 infection associated with endothelial activation. Thromb Reserch. 2020 Apr 15;190:62. doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.014.

7. Mackman N, Grover SP, Antoniak S. Tissue factor expression, extracellular vesicles, and thrombosis after infection with the respiratory viruses influenza A virus and coronavirus. J Thromb Haemost. 2021 Nov;19(11):2652-2658. doi: 10.1111/jth.15509. Epub 2021 Sep 3. PMID: 34418279.

8. Tufano A, Rendina D, Abate V, Casoria A, Marra A, Buonanno P, Galletti F, Di Minno G, Servillo G, Vargas M. Venous Thromboembolism in

COVID-19 Compared to Non-COVID-19 Cohorts: A Systematic Review with Meta-Analysis. J Clin Med. 2021 Oct 25;10(21):4925. doi: 10.3390/jcm10214925. PMID: 34768445; PMCID: PMC8584903.

9. Stein LK, Mayman NA, Dhamoon MS, Fifi JT. The emerging association between COVID-19 and acute stroke. Trends Neurosci. 2021 Jul;44(7):527-537. doi: 10.1016/j.tins.2021.03.005. Epub 2021 Apr 8. PMID: 33879319; PMCID: PMC8026270.

10. Voicu S, Ketfi C, Stépanian A, Chousterman BG, Mohamedi N, Siguret V, Mebazaa A, Mégarbane B, Bonnin P. Pathophysiological Processes Underlying the High Prevalence of Deep Vein Thrombosis in Critically Ill COVID-19 Patients. Front Physiol. 2021 Jan 8;11:608788. doi: 10.3389/fphys.2020.608788. PMID: 33488398; PMCID: PMC7820906.

11. Ishigami J, Kou M, Ding N, Matsushita K. Cardiovascular Disease and Coronavirus Disease 2019: Epidemiology, Management, and Prevention. Curr Epidemiol Rep. 2021 Jan 2:1-8. doi: 10.1007/s40471-020-00261-2. Epub ahead of print. PMID: 33425654; PMCID: PMC7778411.

12. Khan MS, Shahid I, Anker SD, Solomon SD, Vardeny O, Michos ED, Fonarow GC, Butler J. Cardiovascular implications of COVID-19 versus influenza infection: a review. BMC Med. 2020 Dec 18;18(1):403. doi: 10.1186/s12916-020-01816-2. PMID: 33334360; PMCID: PMC7746485.

13. Sharifian-Dorche M, Bahmanyar M, Sharifian-Dorche A, Mohammadi P, Nomovi M, Mowla A. Vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia and cerebral venous sinus thrombosis post COVID-19 vaccination; a systematic review. J Neurol Sci. 2021 Sep 15;428:117607. doi: 10.1016/j.jns.2021.117607. Epub 2021 Aug 3. PMID: 34365148; PMCID: PMC8330139.

14. Whiteley WN, Ip S, Cooper JA, Bolton T, Keene S, et al. (2022) Association of COVID-19 vaccines ChAdOx1 and BNT162b2 with major venous, arterial, or thrombocytopenic events: A population-based cohort study of 46 million adults in England. PLOS Medicine 19(2): e1003926. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003926

15. Madonov P.G., Momot A.P., Mamaev A.N., Roitman E.V., Mishenina S.V. Nonplasminic fibrinolysis by subtilisins. Thrombosis, hemostasis, and rheology. 2019;3(79):24-32.doi.org/10.25555/THR.2019.3.0886. (In Russ.)

16. Pavel Madonov, Stanialav Leont'ev, Sergey Zotov, Maksim Ufimtsev, Svetlana Mishenina, Dmitrii Kinsht Initial Results of Oral Thrombolytic Agent Clinical Application. Proceedings 2018; 2(9): 530; https://doi.org/10.3390/proceedings 2090530.

17. Artamonov AV, Bekarev AA, Kinsht DN, Madonov PG, Mishenina SV Patent RU 2613155 of 25.05.2016. Method for the treatment of patients with acute venous thrombosis of the lower limbs.

Контактные данные

Автор, ответственный за переписку: Фёдорова Елена Павловна, к.м.н., научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск.
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.
Тел.: (3822) 418375
E-mail: fedorova-elen@mail.ru
https://orcid.org/0000-0001-6788-964X

Информация об авторах

Чурин Алексей Александрович, д.м.н., заведующий отделом лекарственной токсикологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск.
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.
Тел.: (3822) 418375
E-mail: fedorova-elen@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-6088-7286

Фомина Татьяна Ивановна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск.
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.
Тел.: (3822) 418375
E-mail: fedorova-elen@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-9863-9464

Филонова Мария Васильевна, лаборант-исследователь лаборатории лекарственной токсикологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск.
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.
Тел.: (3822) 418375
E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru

Ершов Константин Игоревич, к.б.н. научный сотрудник, лаборатория фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2.
Тел.: (383) 316-59-05
E-mail: kaffarm@yandex.ru
ORCID: 0000-0003-1050-6921

Леонов Николай Петрович, к.м.н., научный сотрудник, лаборатория фармацевтических технологий «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2.
Тел.: (383) 316-59-05
E-mail: kaffarm@yandex.ru
ORCID:0000-0002-4364-8937

Байкалов Герман Игоревич, младший научный сотрудник, лаборатория фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2.
Тел.: (383) 316-59-05
E-mail: kaffarm@yandex.ru
ORCID: 0000-0002-5445-9920

Бахарева Ксения Игоревна, младший научный сотрудник, лаборатория фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2.
Тел.: (383) 316-59-05
E-mail: kaffarm@yandex.ru
ORCID: 0000-0003-2054-1659

Мадонов Павел Геннадьевич, д-р мед. наук, доцент, руководитель отдела экспериментальной фармакологии «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2.
Тел. (383) 316-59-05
E-mail: pmadonov@yandex.ru
ORCID: 0000-0002-1093-8938

Поступила в редакцию 22.01.2022
Принята к публикации 15.02.2022

Для цитирования: Чурин А.А., Фёдорова Е.П., Фомина Т.И., Филонова М.В., Ершов К.И., Леонов Н.П., Байкалов Г.И., Бахарева К.С., Мадонов П.Г. Экспериментальное обоснование применения перорального тромболитика на основе иммобилизированных субтилизинов и антикоагулянта на основе низкомолекулярного гепарина для лечения тромбоза сосудов легких при COVID-19. *Бюллетень медицинской науки.* 2022;1(25): 43-51.

Citation: Churin A.A., Fedorova E.P., Fomina T.I., Filonova M.V., Ershov K.I., Leonov N.P., Baikalov G.I., Bakhareva K.S., Madonov P.G. Experimental substantiation of the use of an oral thrombolytic based on immobilized subtilisin and an anticoagulant based on low-molecular-weight heparin for treating pulmonary vascular thrombosis in COVID-19. *Bulletin of Medical Science*. 2022;1(25): 43-51. (In Russ.)