



УДК 577.112.7:577.151

РОЗРОБКА МОДЕЛЬНИХ СИСТЕМ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СТРЕПТОКІНАЗИ НА ТРОМБОЦИТИ

¹Бурлова-Васильєва Н. К., ²Савчук О. М., ²Краснобрижа Є. М., ²Волков Г. Л.

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна. e-mail: burlova@mail.ru

² Шижир Інтернешнл, Уланбатор, Монголія. e-mail: Savchuk.aleksey@shijir.mn

Надійшла до редакції 29.01.2010

У роботі запропоновані різні підходи *in vitro* до вивчення впливу стрептокінази на тромбоцити. Показано, що введення стрептокінази та гепарину спричинює зменшення здатності до АДФ-залежної агрегації тромбоцитів хворих на гострий інфаркт міокарда через 1 годину після застосування. Виявлена тенденція до зростання чутливості тромбоцитів до АДФ на 1-у добу після припинення введення гепарину. Показано, що стрептокіназа викликає активацію тромбоцитів у плазмі крові кроля, проте не активує клітини у плазмі крові без плазміногену. Додавання стрептокінази до плазми крові кроля з підвищеним титром антистрептокіназних антитіл спричинює активацію тромбоцитів без участі плазміногену.

Ключові слова: тромболітична терапія, стрептокіназа, АДФ, тромбоцити.

ВСТУП

Тромболітична терапія є єдиною на сьогодні можливістю вискоєфективної допомоги за патологічного тромбоутворення. Одним з найбільш доступних та розповсюджених нині тромболітичних препаратів є стрептокіназа. Проте, у медичній практиці постає питання доцільності проведення тромболітичної терапії, оскільки існує значний ризик виникнення геморагічних ускладнень у пацієнтів, які проходять лікування. Основною функцією стрептокінази є утворення активного плазміну, який розщеплює фібриновий згусток [1, 2]. Стрептокіназа є імуногенним білком, її поява в кровотоці спричинює утворення специфічних антистрептокіназних антитіл. У зв'язку з поширеністю стрептококових інфекцій у загальній популяції антитіла до стрептокінази виявляються у крові більшості людей. Після введення цього тромболітичного агенту рівень антитіл зростає, досягаючи піку на 2-ий тиждень і може залишатися підвищеним протягом наступних 4-х років. Ці антитіла можуть спричинювати алергічні реакції чи інактивацію стрептокінази, знижуючи ефективність тромболітичної терапії [3-7]. Тому, вдосконалення системи лабораторної діагностики патологій згортання крові і фібринолізу та розробка більш коректних програм лікування з передбаченням можливих побічних дій, викликаних появою стрептокінази у кровотоці, становлять значний науковий інтерес.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для досліджень отримували плазму крові кроля, збагачену тромбоцитами. Для цього кров кроля з додаванням лимоннокислого натрію (38 г/л) центри-

фугували 20 хв. при 150 g і температурі 20° С. Надосадову рідину, яка містила тромбоцити, відбирали і використовували для роботи. Також отримували плазму крові кроля, збагачену тромбоцитами, без плазміногену. Плазміноген вилучали методом афінної хроматографії на лізин-сефарозі. Для синтезу афінного сорбента було використано метод іммобілізації лігандів за допомогою бромціану. Іммобілізацію проводили за стандартною методикою [8].

Активність стрептокінази визначали у плазмі крові хворих на гострий інфаркт міокарда через 1 годину та через 1 добу після проведення тромболітичної терапії стрептокіназою. Залишкову активність препарату оцінювали по вивільненню паранітроаніліна з хромогенного субстрата S₂₂₅₁, який реєстрували через певні проміжки часу. Реакцію проводили при 37° С в планшетах для імуноферментного аналізу в 50 мМ Трис-НСІ буфері рН 7,4, який містив 130 мМ NaCl. Концентрація компонентів реакційної суміші становила: плазма крові 25 мкл, плазміноген 10 мкг/мл, хромогенний субстрат 0,3 мМ. Кінцевий об'єм проби становив 250 мкл.

Агрегацію тромбоцитів індукували розчином аденозиндифосфату до кінцевої концентрації 2,5 мкМ у зразку та досліджували на агрегометрі AP2110 фірми „Солар”, Білорусь. Реєстрували такі параметри агрегаційної кривої як ступінь агрегації (%) – максимальний рівень світлопропускання плазми крові після внесення індуктора агрегації. Вміст тромбоцитів стандартизували за показаннями приладу, концентрація клітин становила 200 тис./мкл проби.

Амідолітичну активність плазміну вимірювали за допомогою хромогенного субстрату S₂₂₅₁ [9]. В інкубаційне середовище послідовно вносили 0,05 М

трис-НСІ буфер, рН 7,4, з вмістом 0,13 М NaCl, 0,1 мкМ плазміногена, 0,3 мМ S₂₂₅₁, 10 МО/мл стрептокінази. Об'єм буферу розраховували таким чином, щоб кінцевий об'єм проби становив 250 мкл. До контрольної проби замість стрептокінази додавали відповідний об'єм буферу. Інкубацію проводили протягом 30-60 хвилин при 37°С. Реєстрацію поглинання вивільненого пара-нітроаніліну проводили в двохвильовому режимі за довжини хвилі 405 та 492 нм на ридері-спектрофотометрі для мікропланшетів Titertek Multiskan MC.

Активацію та агрегацію тромбоцитів досліджували на протоковому цитофлуориметрі COULTER® EPICS™ XL™ Flow Cytometer, який представляє собою систему для якісного і кількісного визначення біологічних та фізичних властивостей клітин та інших частинок. Ці властивості вимірюються під час проходження клітин крізь промінь лазера. За допомогою приладу можна одночасно визначати шість параметрів: пряме розсіювання, бокове розсіювання та інтенсивність флуоресценції частинок на 4 довжинах хвиль (FL1, FL2, FL3, FL4), використовуючи 1 лазер, що випромінює на довжині хвилі 488 нм. У ході експерименту використовувалися два типи світлорозсіювання: бокове та пряме. Пряме світлорозсіювання застосовується для оцінки розміру клітини та клітинних агрегатів, бокове світлорозсіювання характеризує щільність цитоплазми тромбоцитів та може бути використане для визначення факту активації. На основі порівняння відповідних графіків контролю та досліду робиться висновок стосовно проведеного експерименту. При активації тромбоцитів секретується вміст їхніх гранул та змінюється форма клітин. Внаслідок цього відбувається зміна форми графіку, характерного для інтактних клітин. Крива, що утворюється при агрегації тромбоцитів, також значно відрізняється від кривої контрольного експерименту.

Титр антитіл проти стрептокінази у плазмі крові кроля визначали методом імуоферментного аналізу у модифікації ELISA [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Раніше нами було встановлено, що введення стрептокінази спричинює підвищення рівня інгібітора активаторів плазміногену 1 типу (ПАІ-1) у кровотоці кролей [11].

Відомо, що інгібітор є одним з месенджерів дисфункції тромбоцитів. ПАІ-1 синтезується ендотеліальними клітинами судин та мегакаріоцитами, проте до 90 % загального пулу інгібітору виявлено у комплексній формі з вітронектином в α -гранулах тромбоцитів. Комплекс потрапляє у клітини при їх утворенні з мегакаріоцитів [12-14].

Встановлено, що підвищена концентрація ПАІ-1 є сигналом майбутнього розвитку атеротромбозу.

Низьку активність тканинного активатора плазміногена та/або підвищення активності його інгібітору у багатьох випадках називають причиною венозних тромбозів [15, 16]. Дані деяких досліджень свідчать, що підвищений вміст ПАІ-1 впливає на частоту реінфарктів [17, 18]. Також у деяких роботах показано підвищення ризику інфаркту міокарда, ішемічних інсультів та рестенозів після ангіопластики у хворих з високим рівнем ПАІ-1 у крові [19, 20].

Також, застосування стрептокінази як тромболітичного агента може призводити до активації тромбоцитів, що затримує артеріальну реперфузію та сприяє ранній реоклюзії. Вважається, що стрептокіназа може спричинювати активацію тромбоцитів через рецептори поверхні клітин [21, 22]. Специфічні рецептори на тромбоцитарній плазматичній мембрані мають такі активуючі агенти як тромбін, катехоламіни, серотонін, фактор агрегації тромбоцитів та АДФ [23].

Наведені дані свідчать про важливість визначення ПАІ-1 як маркера гострого коронарного синдрому, а також про те, що різка зміна в кровотоці рівня інгібітору може свідчити про активацію тромбоцитів під впливом певного чинника.

У зв'язку з цим нами було проведено дослідження впливу стрептокінази на АДФ-залежну агрегацію тромбоцитів хворих на гострий інфаркт міокарда (ГІМ). Механізм активації тромбоцитів АДФ представляє значний інтерес для фармакології та медицини. Активація і агрегація тромбоцитів, викликані АДФ, відіграють основну роль у розвитку та патогенезі артеріальних тромбозів. Активуючий вплив агоністу опосередкований гетеротримерними ГТФ-зв'язуючими, чи G-білками. Дія АДФ призводить до зміни форми тромбоцитів, підвищення активності фосфоліпази С та концентрації цитозольного кальцію [24, 25].

Зразки крові відбирались при надходженні хворих на стаціонар (n=20) через 1 годину, 3 доби, 7 діб та через 30 діб після проведення тромболітичної терапії стрептокіназою.

Виявлено, що тромбоцити хворих на ГІМ мають значно вищий ступінь агрегації по відношенню до АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів практично здорових донорів. Ступінь агрегації тромбоцитів донорів становив 42±3,1 %, у той час як агрегація у хворих людей досягала 61±8,2 % (рис. 1.). Одразу після застосування стрептокінази та гепарину відмічається зменшення здатності до агрегації у хворих на гострий інфаркт міокарда. На 3-ю добу після застосування лікарських засобів ступінь АДФ-індукованої агрегації наближається до норми, проте вже на наступну добу після припинення введення гепарину повертається до вихідного високого показника. На 30 добу після лікування відмічається певне зростання ступеню АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів пацієнтів до 66±10,8 %, у той час як до проведення тромболітичної терапії цей показник складав 61±8,2 %.

Зменшення здатності до агрегації тромбоцитів у відповідь на АДФ вже через 1 годину після введення стрептокінази та гепарину може бути пов'язане з порушенням функції тромбоцитів за рахунок дії препаратів. З огляду на це, певний інтерес представляє дослідження присутності стрептокінази в кровотоці після її внутрішньосудинного введення. У літературі зустрічаються різні дані стосовно часу напівжиття стрептокінази у кровотоці. Так, різними авторами вказаний час 15-25 хвилин та 80-90 хвилин відповідно [26, 27]. Присутність цього тромболітичного агента визначали за його активністю в зразках плазми крові у пацієнтів, хворих на ГІМ.

Отримані дані показали присутність стрептокінази у кровотоці через 1 годину після проведення тромболітичної терапії. У хворих спостерігались досить значні коливання активності стрептокінази – від 2,1 МО/мл до 34 МО/мл. Середня активність тромболітичного агента складала $15,9 \pm 3,6$ МО/мл. Дані по активності стрептокінази через 1 добу після її введення показали повну відсутність активності цього білка в плазмах крові хворих на ГІМ. Це може свідчити як про виведення тромболітичного агента з організму пацієнта, так і про те, що він циркулює в кровотоці, але знаходиться в неактивній формі (комплекси з різними біомолекулами чи адгезія на клітинних поверхнях).

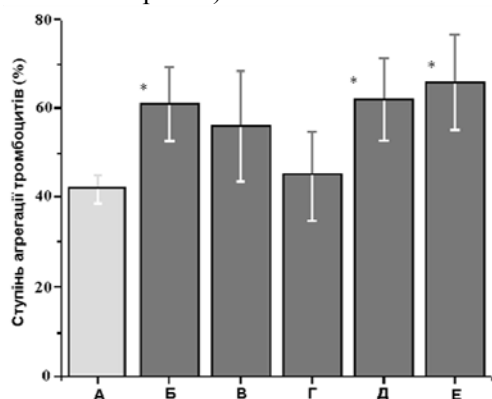


Рис. 1. АДФ-залежна агрегація тромбоцитів у плазмі крові пацієнтів контрольної групи (А), при надходженні хворих на гострий інфаркт міокарда до стаціонару (Б), через 1 годину (В) та 3 доби (Г) після введення стрептокінази та під час гепаринової терапії, і через 7 діб (Д) та 30 діб (Е) після введення стрептокінази та без лікування гепарином. $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

Аналіз наявності залишкової активності стрептокінази дозволяє зробити висновок, що зміна функції тромбоцитів через 1 годину після проведення тромболітичної терапії може бути обумовлена дією не тільки плазміну або інших чинників, які з'явилися в кровотоці під дією стрептокінази, але і самої молекули стрептокінази.

Для проведення подальших досліджень отримували плазму крові кроля, збагачену тромбоцитами та досліджували вплив стрептокінази на активацію клітин. Кількість стрептокінази розраховували відповідно до схеми лікування людей

при захворюванні на гострий інфаркт міокарда. Загальноприйнятою ефективною дозою стрептокінази у сучасній медичній практиці прийнято 1,5 млн од для ваги 70 кг.

Повідомляється, що лікування низькими дозами препарату (500 тис. одиниць) є не менш ефективним, ніж використання загальноприйнятої дози [28, 29]. З огляду на це, було обрано мінімальну дозу стрептокінази (200 од/мл), яка може бути використана для проведення тромболітичної терапії.

Як видно з рис. 2, внесення стрептокінази у плазму крові кроля, збагачену тромбоцитами, викликає помітне зміщення піку графіка "дослід" відносно графіка "контроль" по вісі абсцис, що вказує на зміну гранулярності тромбоцитів та їх активацію.

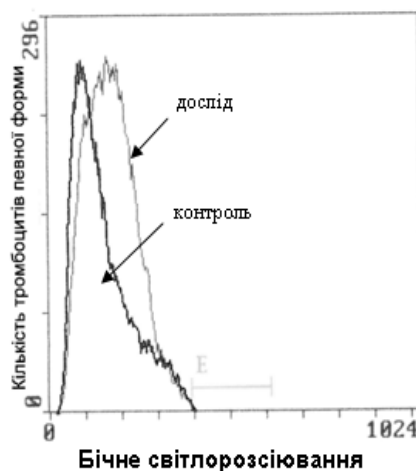


Рис. 2. Гістограма інтенсивності бічного світлорозсіювання, що обумовлюється гранулярністю тромбоцитів плазми крові кроля в експериментах *in vitro*. 1 – дослід (інкубація стрептокінази 200 МО/мл з плазмою кроля, збагаченою тромбоцитами), 2 – контроль (без стрептокінази). Гістограми контролю і досліду «накладені» одна на одну для наочності. Наведені дані характерного експерименту.

Для проведення подальших досліджень плазму крові кроля, збагачену тромбоцитами, позбавляли плазміногена методом афінної хроматографії на лізин-сефарозі. Як видно з рис. 3, афінна хроматографія повністю вилучає плазміноген з плазми крові (розщеплення хромогенного субстрату S_{2251} не відбувається).

Дана модельна система дозволяє дослідити вплив стрептокінази на клітини не опосередкований утвореним плазміном. Стрептокіназу додавали у кількості 200 МО/мл проби. Як видно з рис. 4, графіки контролю і досліду співпадають, тобто внесення стрептокінази до плазми крові, збагаченої тромбоцитами за відсутності плазміногену не спричинює активацію клітин.

Відомо, що стрептокіназа має антигенні властивості. Титри антистрептокіназних антитіл швидко нарастають протягом декількох днів після її введення у кровотік і через кілька діб досягають піку, який може у 1000 разів перевищувати вихідні титри антитіл проти стрептокінази [3-7].

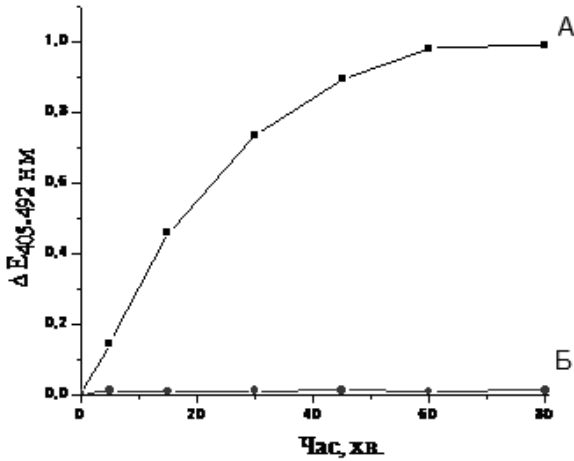


Рис. 3. Графік зміни адсорбції при розщепленні специфічного для плазміну хромогенного субстрату S₂₂₅₁ плазмою крові кроля (А) до її хроматографування на Lys Sepharose HP і (Б) після її хроматографування на Lys Sepharose HP.

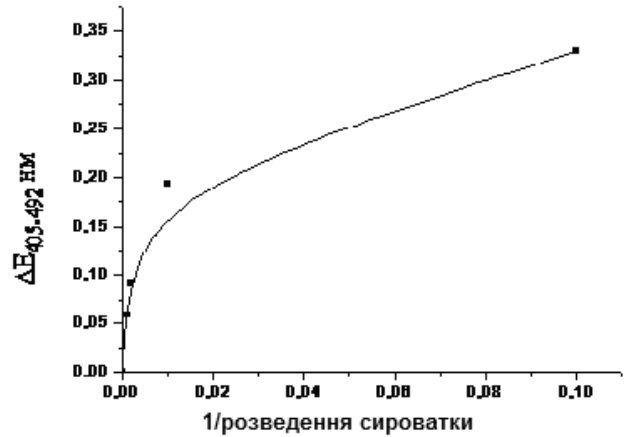


Рис. 5. Титр антистрептокіназних антитіл у плазмі крові кроля на 30 добу після введення препарату стрептокінази внутрішньовенно.

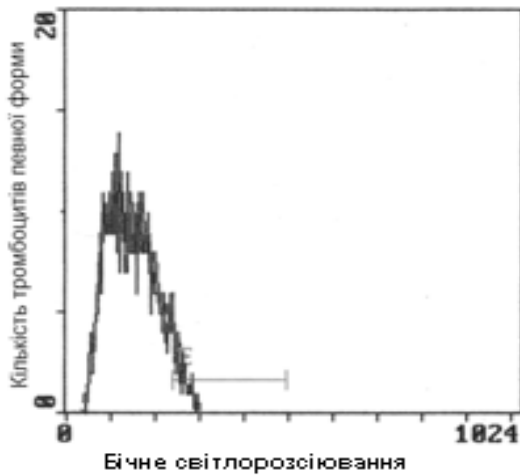


Рис. 4. Гістограма інтенсивності бічного світлорозсіювання, що обумовлюється гранулярністю тромбоцитів у плазмі крові кроля без плазміногену в експериментах *in vitro* за умов дії стрептокінази. Гістограми контролю і досліді «накладені» одна на одну для наочності. Наведені дані характерного експерименту.

Для проведення подальших досліджень моделювали утворення антитіл проти стрептокінази в кровотоці *in vivo*. Для цього кролям вводили препарат стрептокінази внутрішньосудинно відповідно до схеми лікування людей на гострий інфаркт міокарду у перерахунку на вагу тварин (22 тис. од. на один кг ваги). Отриману плазму крові, збагачену тромбоцитами, позбавляли плазміногену за допомогою афінної хроматографії на лізин-сефарозі за стандартною методикою.

Титр антистрептокіназних антитіл у кровотоці кроля визначали на 30 добу після введення тромболітичного препарату (рис. 5.)



Рис. 6. Гістограма інтенсивності бічного світлорозсіювання, що обумовлюється гранулярністю тромбоцитів у плазмі крові кроля без плазміногену, яка мала підвищений титр антистрептокіназних антитіл в експериментах *in vitro* за умов інкубації без (1-контроль) та зі стрептокіназою (2-дослід). Гістограми контролю і досліді «накладені» одна на одну для наочності. Наведені дані характерного експерименту.

Як видно з рис. 6., внесення стрептокінази у кількості 200 од/мл у плазму крові кроля з підвищеним титром антитіл до стрептокінази спричинювало значне зміщення дослідного графіку відносно контрольного при бічному світлорозсіюванні, що вказує на активацію тромбоцитів.

Таким чином, утворення у плазмі крові комплексу стрептокіназа-антитіло викликає активацію тромбоцитів навіть за відсутності плазміногену. З огляду на результати, отримані при дослідженні наслідків тромболітичної терапії у хворих на ГІМ, не виключено, що стрептокіназа має безпосередній вплив на тромбоцити. На цей факт вказує зміна

функціонування тромбоцитарної мембрани вже через 1 годину після проведення тромболітичної терапії. Цілком вірогідно, що загальний ефект активації клітин *in vivo* як у кроля, так і у людини, складається з суми ефектів дії плазміну та безпосередньо самої стрептокінази. Плазмін може діяти на клітини через такі фактори як утворення тромбіну, продуктів деградації фібриногену/фібрину та ін.

Проведені дослідження дозволяють стверджувати, що стрептокіназа має вплив на тромбоцитарну мембрану. Можливо, має місце конкурентне інгібування зв'язування стрептокінази та АДФ з рецепторами на поверхні клітин. Проте, у хворих на ГІМ вже на 30 добу після проведення тромболітичної терапії спостерігається підвищення чутливості тромбоцитів до АДФ, що може вказувати на значні порушення у тромбоцитарній мембрані. Повторне застосування стрептокінази у якості тромболітичного агента може призвести до подальшого розвитку порушень у функціонуванні тромбоцитарної мембрани та до утворення значної кількості антитіл у кровотоці. Як було показано, комплекс стрептокіназа-антитіло має активуючий вплив на тромбоцити. З огляду на отримані результати, повторне застосування стрептокінази як тромболітичного агента є небажаним.

ВИСНОВКИ

Використання наведених модельних систем дає підстави стверджувати, що ведення стрептокінази у кровотік викликає активацію тромбоцитів. Можливо, що загальний ефект активації клітин складається з суми ефектів дії плазміну та безпосередньо самої стрептокінази. Показано, що стрептокіназа та гепарин мають здатність інгібувати АДФ-залежну агрегацію тромбоцитів одразу після введення хворим на ГІМ. Проте, ефект інгібування є недовготривалим. На 1-у добу після припинення введення гепарину ступінь АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів повертається до вихідного високого показника. На 30 добу після лікування відмічається зростання ступеню АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів пацієнтів до $66 \pm 14,2\%$, у той час як до проведення тромболітичної терапії цей показник складав $61 \pm 10,2\%$. Встановлено, що комплекс стрептокіназа-антитіло спричинює активацію тромбоцитів навіть за відсутності плазміногена.

Отримані в роботі дані є важливими для вдосконалення системи контролю тромболітичної терапії та покращення якості лікування хворих на тромбози.

Література

1. Ben N. A., Wistedt A., Ringdahl U., Sjobring U. Streptokinase activates plasminogen bound to human group C and G streptococci through M-like proteins // Eur. J. Biochem. – 1994. – Vol. 222. – P. 267-276.
2. Lottenberg R., Desjardin L. E., Wang H. Streptokinase-producing streptococci grown in human plasma acquire unregulated cell-associated plasmin activity // J. Infect. Dis. – 1992. – Vol. 166. – P. 436–440.
3. Lee H. S., Cross s., Davidson R. et al. Raised levels of antistreptokinase antibody and neutralization titers from 4 days to 54 months after administration of streptokinase or anistreplase // Eur. Heart J. – 1993. – Vol. 14 – P. 18.
4. Patel S., Jalihal S., Dutka D. P., Morris G. K. Streptokinase neutralization titers up to 866 days after intravenous streptokinase for acute myocardial infarction // Br. Heart J. – 1993. – Vol. 70. – P. 119.
5. Regnault V., Helft G., Wahl D. et al. Antistreptokinase platelet activating antibodies are common and heterogeneous // J. Thromb. Haemost. – 2003. – Vol. 1, N 5. – P. 1055-1061.
6. Helft G., Lecompte T., Le Feuvre C. et al. Anti-streptokinase antibodies // Arch. Mal. Coeur. Vaiss. – 1997. – Vol. 90, N 7. – P. 975-980.
7. Gemmill j., Hogg K., Dunn F. et al. Pre-dosing antibody levels and efficacy of thrombolytic drugs containing streptokinase // Br. Heart J. – 1994. – Vol. 72, N 3. – P. 222-225.
8. Affinity Chromatography. Principles and Methods. // Amersham Pharmacia Biotech AB. – 2001. – P. 156.
9. Castellino F.J., Sodez J.M., Brockway W.J., Siefring G.F. Streptokinase // Methods in Enzymology. – 1976. – Vol. 45. – P. 244-257.
10. Selected methods for antibody and nucleic acid probes. Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA, 1993. – 680 p.
11. Бурлова-Васильєва Н. К., Краснобрижа Є. М., Савчук О. М. та інші // Український біохімічний журнал. – 2006. – 78, N 3. – С.113 – 117.
12. Juhan-Vague I, Alessi MC, Morange PE. Hypofibrinolysis and increased PAI-1 are linked to atherothrombosis via insulin resistance and obesity // Ann Med. – 2000. – Vol. 32, N 1. – P.78-84.
13. Aso Y. Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 in vascular inflammation and thrombosis // Front Biosci. – 2007. – Vol. 1, N 12. – P. 2957-66.
14. Добровольський А. Б., Тумаєва Е. В. Система фібринолізу: регуляція активності и фізіологіческие функции ее основных компонентов // Биохимия. – 2002. – № 67. – С. 116-127.
15. Lijnen H. R. Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1 // J Thromb. Haemost. – 2005. – Vol. 3. – P. 35.
16. Lijnen H. R. Patophysiology of the plasminogen/plasmin system // Clin. Lab. Res. – 1996. – 26. – P. 1.
17. Pedersen O., Munkvad S., Gram J. et al. Depression of factor XII-dependent fibrinolytic activity in survivors of acute myocardial infarction at risk of reinfarction // Europ. Heart J. – 1993. – Vol. 14. – P. 785-789.
18. Jansson J., Nilsson T., Oloffson B. Tissue plasminogen activator and other risk factors as predictors of cardiovascular events in patients with severe angina pectoris // Europ. Heart J. – 1991. – Vol. 12. – P. 157-161.
19. Juhan-Vague I, Morange P, Christine Alessi M. Fibrinolytic function and coronary risk // Curr Cardiol Rep. – 1999. – Vol. 1, N 2. – P. 119-24.
20. Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis // J. Thromb. Haemost. – 2005. – Vol. 3, N 8. – P. 1879-83.
21. Redmond M., Harriot P., Walker B. Streptokinase-induced platelet activation involves antistreptokinase antibodies and cleavage of protease-activated receptor-1 // Blood. – 2000. – Vol. 95, № 4. – P. 46.
22. Couvral M., Palisaitis D. A., Diodati J. G. et al. Platelet activity and antibody titers after exposure to streptokinase or streptococcal infection // Thromb. Res. – 2003. – Vol. 111, N 4-5. – P. 243-249.

23. *Davies P. F., Tripathi S. C.* Mechanical stress mechanisms and the cell: an endothelial paradigm // *Circ. Res.* – 1993. – Vol. 72, N 2. – P. 239-245.
24. *Woulfe D., Yang J., Brass L.* ADP and the platelets: the end and the beginning // *J. Clin. Invest.* – 2001. – Vol. 107, N 12. – P. 1503-1505.
25. *Penn R. B., Benovic J. L.* regulation of G-protein coupled receptors // *Handbook of physiology* / Ed. By P. M. Conn. – New York: Oxford Univ Press, 1998. – P. 125-164.
26. *Grierson D., Bjornsson T.* Pharmacokinetics of streptokinase in patients based on amidolytic activator complex activity // *Clinical Pharmacology and Therapeutics.* – 1987. – Vol. 41. – P. 304-313.
27. *Coates G., DeNardo S., DeNardo G. and Troy F.* Pharmacokinetics of Radioiodinated Streptokinase // *The Journal of Nuclear Medicine.* – Vol. 16, N. 2. – P. 136-142.
28. *Raffo C, Bartolucci J, Corbalán R et al.* Usefulness of thrombolytic therapy with low doses of streptokinase in acute myocardial infarction // *Rev Med Chil.* – 2006. – Vol. 134, N 10. – P. 1249-1257.
29. *Cheah F-C, Boo N-Y, Rohana J and Yong S-C.* Successful clot lysis using low dose of streptokinase in 22 neonates with aortic thromboses // *Journal of Paediatrics and Child Health.* – 2008. – Vol. 37, N 5. – P. 479-482.

РАЗРАБОТКА МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ СТРЕПТОКИНАЗЫ НА ТРОМБОЦИТЫ

Бурлова-Васильева Н. К., Савчук А. Н., Краснобрижа Е. М., Волков Г. Л.

В работе предложены разнообразные подходы *in vitro* для изучения влияния стрептокиназы на тромбоциты. Показано, что введение стрептокиназы и гепарина вызывает уменьшение способности тромбоцитов больных острым инфарктом миокарда агрегировать в ответ на АДФ через 1 час после применения. Обнаружена тенденция к возрастанию чувствительности тромбоцитов к АДФ на 1-е сутки после прекращения введения гепарина. Показано, что стрептокиназа вызывает активацию тромбоцитов в плазме крови кролика, но не активирует клетки в плазме крови без плазминогена. Добавление стрептокиназы в плазму крови кролика с повышенным титром антистрептокиназных антител вызывает активацию тромбоцитов без участия плазминогена.

Ключевые слова: тромболитическая терапия, стрептокиназа, АДФ, тромбоциты.

DEVELOPMENT OF MODEL SYSTEMS FOR INVESTIGATION OF STREPTOKINASE INFLUENCE ON PLATELETS

Burlova-Vasilieva N. K., Savchuk O. M., Krasnobryzha E. M., Volkov G. L.

In the present study various *in vitro* approaches for investigation of streptokinase influence on platelets were proposed. It was shown that intravenous introduction of streptokinase and heparin caused inhibition of ADP-dependent aggregation of platelets obtained from acute myocardial infarction patients in 1 hour after treatment. Tendency towards increment of platelet sensitivity to ADP was determined after heparin treatment cancelation. It was shown that streptokinase caused platelet activation in rabbit blood plasma but did not activate cells in plasma without plasminogen. Addition of streptokinase to rabbit blood plasma with increased anti-streptokinase antibodies titre caused platelets activation without plasminogen participation.

Key words: thrombolytic therapy, streptokinase, ADP, platelets.
