

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ БССР**

**Белорусский ордена Трудового Красного Знамени  
научно-исследовательский институт эпидемиологии  
и микробиологии**

**Белорусское научное медицинское общество микробиологов,  
эпидемиологов и паразитологов**

**ЭНЗИМОЛОГИЯ  
ТРОМБОЛИЗИСА  
И СТРЕПТОКИНАЗА**

**Минск 1982**

Министерство здравоохранения БССР

Белорусский ордена Трудового Красного Знамени  
научно-исследовательский институт  
эпидемиологии и микробиологии

Белорусское научное медицинское общество  
микробиологов, эпидемиологов и паразитологов

ЭНЗИМОЛОГИЯ  
ТРОМБОЛИЗИСА  
И СТРЕПТОКИНАЗА

Материалы  
Республиканского  
симпозиума

Минск 1982

## ЭНЗИМОЛОГИЯ ТРОМБОЛИЗИСА И СТРЕПТОКИНАЗА

Энзимология тромболизиса и стрептокиназы  
(Материалы Республиканского симпозиума). -  
Мн., 1982, с.156.

В сборнике опубликованы материалы, посвященные молекулярно-биологическим и физиологическим аспектам тромболизиса и его регуляции, свойствам стрептокиназы и других тромболитических ферментов. Освещены отдельные биохимические, микробиологические и технологические вопросы получения ферментов тромболитического действия и экспериментально-клинические аспекты их применения.

Сборник предназначен для биохимиков, физиологов, микробиологов, фармакологов, а также специалистов других профессий, интересующихся вопросами тромболизиса.

### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

И.Е.Савченко, В.И.Вотяков - главные редакторы,  
П.Г.Рытик, В.Н.Никандров - заместители главных редакторов  
Е.Н.Ковчур - ответственный секретарь,  
Г.В.Воробьева, Г.С.Дзвидова, Т.А.Завалишина,  
А.И.Кузина, В.М.Ткач

УДК 576.851.214:616-14-022

Н.С.Микуцкий, А.П.Жевчук, А.Н.Савченко, В.И.Вотяков,  
П.Г.Рытик, В.Н.Никандров

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О КЛИНИЧЕСКОЙ АПРОБАЦИИ ЦЕЛИАЗЫ  
(Минск)**

Одним из методов лечения тромботических осложнений является применение тромболитических ферментов, в частности препаратов стрептокиназы (СК): стрептазы (ФРГ), кабрикиназы (Швеция), авелиазина (ГДР). Однако широкое использование этого тромболитика в клинической медицине нашей страны сдерживается отсутствием отечественного аналога. В Белорусском НИИ эпидемиологии и микробиологии получены образцы очищенной СК, названной целиазой /1/. Исследования целиазы на лабораторных животных выявили достаточно высокое специфическое действие ее на показатели гемостаза и фибринолиза /2,3/.

В этой связи возникла необходимость апробации целиазы в клинике. При проведении работы ставились следующие задачи:

оценки переносимости (безвредности) тромболитика, выявление возможных побочных эффектов, исследование влияния на показатели гемостаза и фибринолиза.

#### Материалы и методы

Апробация целиазы проведена на базе НИИ кардиологии МЗ БССР (4-я клиническая больница) в порядке, предусмотренном приказом Минздрава СССР № 616 от 27.08.71. Лечение целиазой подморгнуто семь больных с тромбофлебитами и флеботромбозами конечностей различной локализации (табл.1). Тромболитик экспериментальных серий, прошедших полный биохимический и биологический контроль, вводили внутривенно капельно со скоростью 100000 ед/час, после предварительного введения начальной дозы 150000-300000 ед. Препарат растворяли в реополиглюкине. Скорость инфузии устанавливали 10-17 кап/мин. Курсовая доза целиазы составляла 1,5-3,0 млн.ед. В целях снижения адгезивной способности тромбоцитов, расширения периферической сети сосудов, а также для десенсибилизации организма вводили внутримышечно компламин (2,0 мл), папаверин 2%-ный (2,0), димедрол 1%-ный (4,0), анальгин 50%-ный (4,0), суспензию гидрокортизона или преднизолон (30-100 мг).

Контроль за состоянием пациентов осуществляли путем периодических объективных осмотров (жалобы, общее состояние, значения частоты пульса, АД, частоты дыхания, температуры). До инфузии и в процессе тромболитической терапии контролировали следующие показатели крови: время свертывания - по Ли-Уайту, уровень фибриногена - по Рутбэргу, протромбиновый индекс - по Туголкуву, тромбиновое время - по Сирмаи, тромботест - по Итя в модификации Котовицкой, спонтанный фибринолиз и ретракцию сгустка - по Макферлану, активность фибриназы /7/.

#### Результаты и обсуждение

Продолжительные инфузии целиазы в целом переносились больными удовлетворительно. Из данных табл. 1 и 2, видно, что при введении тромболитика в условиях адекватной медикаментозной терапии (см. "Материалы и методы") у больных отмечены повышение температуры на 1,5-2,0<sup>0</sup> С, умеренное снижение АД до 90/70 мм рт.ст., учащение дыхания и пульса.

Как известно, некоторое снижение АД, гипертермия, побочные реакции в виде крапивницы, сыпи, тошноты, озноба довольно

Таблица I

Влияние целиазы на показатели общего состояния организма

Больные	Возраст, лет	Диагноз	Срок заботлева-ния, суток	Серия препара-та	Курс, доз, млн. ед.	Темпера-тура		Пульс		АД		Частота дыхания
						исх.	макс. измен. час.	исх.	макс. измен. час.	исх.	измен. час.	
Б-я А.	29	Восходящий тромбфлебит подкожн. вен нижних конечн.	6	970780	1,5	37	<u>39,5</u> 12	68	<u>100</u> 7	140/90	<u>100/60</u> 7	15-20
Б-я В.	49	Облитерирующий атеросклероз артер. в ветвей, тромбфлебит подкожн. вен лев. стопы	2	"	2,0	36,5	<u>39</u> 7	72	<u>100</u> 7	145/95	<u>140/90</u> 7	15-20
Б-я П.	28	Илеофemorальный флебс-тромбоз слева	1,5	"	3	38	<u>40,1</u> 10	80	<u>120</u> 10	120/80	<u>90/60</u> 4	16-20
Б-я К.	55	Илеофemorальный флебо-тромбоз справа	4	930680	3	37,3	<u>38,6</u> 13	118	<u>120</u> 16	130/90	<u>90/70</u> 25	20-25
Б-я Д.	58	Острый восходящий тромбо-флебит подкожн. вен правой нижней конечн.	5	"	1,5	36,6	<u>39,2</u> 1,5	72	<u>110</u> 1,5	120/80	<u>95/60</u> 1,5	14-25
Б-я Т.	29	Флеботромбоз подвздошных и тазовых вен слева	6	"	2	36,9	<u>39,3</u> 10	80	<u>102</u> 10	110/70	<u>90/60</u> 10	15-20
Б-я М.	55	Синдром Педжета-Шреттера	6	970780	1,5	37,0	<u>38,1</u> 22	62	<u>80</u> 16	140/80	<u>140/80</u> 10	14-20

что (в 20-30% случаев) сопутствуют тромболитической терапии препаратами СК /4,5/ и, возможно, объясняются ее антигенными свойствами и гиперфибринолитическим действием /6/. Выраженные побочные эффекты в виде озноба, высокой температуры, стойкого и значительного снижения АД, не поддающиеся медикаментозной коррекции, наблюдались лишь у двух больных при применении целиазы серии 930680. Реакция появилась через 1,5 (больной Д.) и 10 часов (больная Т.) и исчезла через 2-3 часа после прекращения введения препарата.

Таблица 2

Влияние целиазы на показатели свертывающей системы крови\*

Больные	Время свертывания крови, сек.	Фибриноген, г%	Протромбиновый индекс, %	Спонтанный фибринолиз, %
Б-И Ж.	<u>257</u>	<u>4220</u>	<u>81</u>	<u>4,3</u>
	730	330	68	7,9
Б-И В.	<u>335</u>	<u>4660</u>	<u>104</u>	<u>7,4</u>
	732	2110	82	20,0
Б-я П.	<u>355</u>	<u>4440</u>	<u>72</u>	<u>3,8</u>
	530	2440	36	29,3
Б-И К.	<u>440</u>	2660	<u>86</u>	<u>11,6</u>
	600		63	30,0
Б-я Т.	<u>330</u>	<u>3770</u>	<u>98</u>	<u>12,5</u>
	1285	1550	57	116,0
Б-я М.	<u>114</u>	<u>3770</u>	<u>104</u>	<u>12,5</u>
	955	2220	85	121,0

\* В числителе - исходный уровень, в знаменателе - после инфузии тромболитика.

Контроль за эффективностью действия препарата, осуществляемый путем периодических объективных осмотров, показал, что в течение первых суток после начала инфузии целиазы у больных отмечено уменьшение отека конечности, чувства тяжести, распирания, боли (при илеофemorальных флеботромбозах), гиперемии и протяженности плотного болезненного тяжа, пальпируемого по ходу подкожных вен (при тромбофлебитах подкожных вен). Это позволяет косвенно судить о растворении тромбов в венозных сосудах.

Исследования динамики показателей гемостаза свидетель-

ствуют о нарастании фибринолитического потенциала крови в процессе инфузии целлиазы, которое характеризовалось увеличением времени свертывания крови в 2-4 раза, снижением уровня фибриногена в 2-2,5 раза, нарастанием интенсивности спонтанного фибринолиза в 3-10 раз, снижением протромбинового индекса на 20-30% (см.табл.2).

Изменения показателей гемостаза и фибринолиза в динамике у больной А. демонстрирует табл.3.

Таблица 3

Влияние целлиазы на динамику показателей свертывающей системы крови

Тест	Исходные данные	Время от начала инфузии целлиазы, час				
		3	6	10	16	18
Время свертывания крови, сек.	414	590	335	398	1010	1025
Толерантность плазмы к гепарину, сек.	440	630	217	510	80	655
Протромбиновый индекс, %	104	96	92	82	85	85
Тромботест	УП	У1	Не иссл.	У	У	У
Фибриноген, мг %	3770	3330	3110	2440	2220	2220
Ретракция, %	71	86	81	78	76	89,5
Спонтанный фибринолиз, %	12,5	13	15,6	55	Не иссл.	121
Фибринолиз, %	12,5	14	24,3	138	"	Не иссл.
Гематокрит, %	36	42	32	36	34	33

Таким образом, полученные предварительные данные позволяют судить об удовлетворительной переносимости целлиазы, в том же о значительном нарастании фибринолитического потенциала крови при продолжительных инфузиях указанного тромболитика.

Л и т е р а т у р а: 1. Савченко Н.Е., Вотяков В.И., Никандров В.Н. - В кн.: Стрептокиназа и другие тромболитические ферменты. Мн., 1979, 3-9. - 2. Савченко А.Н., Шавчук А.П., Лещу С.Ч., Красовская Т.П. - Там же, 128-130. - 3. Никандров В.Н., Наумович С.А., Цыганович С.Г. - В кн.: Вопросы лабораторной диагностики: Тез.докл. П респ. съезда врачей лаборантов. Мн.,



1981, 103-104. - 4. Вольф М., Раянбергер К. Лечение ферментами. М., 1976. - 5. Могош Г. Тромбозы и эмболии при сердечно-сосудистых заболеваниях. Бухарест, 1979. - 6. Марквардт Ф., Клекинг Х.П. - Фармакол. и токсикол., 1980, 43, 6, 671-674. - 7. Довгялло Г.Х., Крыжановский В.Л. Практическое руководство по исследованию свертывающей системы крови в клинике. М., 1969.

PRELIMINARY DATA ON THE CLINICAL TRIAL OF "CELYASE"

N.S.Mikutsky, A.P.Shevchuk, A.N.Savchenko,  
V.I.Votyakov, V.N.Nikandrov

Innocuity of celyase and its thrombolytic effect were studied in acute extremity vein thrombosis. Long infusions of celyase solutions induced increasing fibrinolytic blood potential and decreasing clinical signs of thromboses.

## СОДЕРЖАНИЕ

## CONTENTS

- Никандров В.Н., Савченко Н.Е.,  
Вотьяков В.И. Состояние исследова-  
ний в области создания  
тромболитических ферментных пре-  
паратов и пути дальнейшей раз-  
работки тромболитиков на осно-  
ве стрептокиназы . . . . . 3
- Розенфельд М.А. Термодинами-  
ка образования и лизиса фиб-  
рина . . . . . II
- Кудряшов Б.А. Естественный не-  
ферментативный фибринолиз,  
его молекулярная природа, фи-  
зиологическое и патофизиоло-  
гическое значение . . . . . 17
- Никандров В.Н. Дискуссионные  
вопросы структурных и катали-  
тических свойств стрептокина-  
зы . . . . . 23
- Кудинов С.А., Гриненко Т.В.  
Активация плазминогена стреп-  
токиназой . . . . . 34
- Кудинов С.А., Пилявская А.С.  
 $\alpha_2$ -антиплазмин в регуляции  
фибринолиза . . . . . 41
- Никандров В.Н., Воробьева Г.В.,  
Демидчик Н.В., Казючиц О.А.  
Исследование некоторых физико-  
химических свойств стреп-  
токиназы стрептококка штамм  
H46A . . . . . 47
- Веремеенко К.Н., Кизим А.И.  
Субстратная специфичность  
плазмина, связанного с  
 $\alpha_2$ -макроглобулином . . . . . 53
- Давыдова Г.С., Шикова Л.В.,  
Погудо А.И., Шатило Н.Л. Изу-  
чение биосинтеза стрептоки-  
назы при различных условиях  
культивирования штамма-про-  
дукента . . . . . 58
- Егоров Н.С., Ландау Н.С. Неко-  
торые особенности и перспекти-  
вы биосинтеза тромболитиче-  
ских ферментов ассоциативны-  
ми культурами микроorganiz-  
мов . . . . . 63
- Nikandrov V.N., Savchenko N.E.,  
Votyakov V.I. The present  
state of research on desig-  
ning thrombolytic fermental  
preparations and ways of  
their further development  
on the basis of streptokinase
- Rosenfeld M.A. Thermodynamics  
of fibrin formation and ly-  
sis
- Kudryashov B.A. Natural non-  
enzymatic fibrinolysis, its  
molecular properties, phy-  
siological and pathophysio-  
logical significance
- Nikandrov V.N. Debatable  
problems of structural and  
catalytic properties of  
streptokinase
- Kudinov S.A., Grinenko T.V.  
Activation of plasminogen  
by streptokinase
- Kudinov S.A., Pilyavskaya A.S.  
 $\alpha_2$ -antiplasmin in the re-  
gulation of fibrinolysis
- Nikandrov V.N., Vorobyova G.,  
Demidchik N.V., Kazyuchits O.  
A study of some physico-  
chemical properties of strep-  
tokinase of H46A strain  
streptococcus
- Veremeenko K.N., Kizim A.I.  
Substrate specificity of  
macroglubulin-bound plas-  
min
- Davydova G.S., Shikova L.V.,  
Pogudo A.I., Shatilo N.L.  
The study of streptokinase  
biosynthesis under diffe-  
rent cultivation conditions  
of strain-producer
- Egorov N.S., Landau N.S. So-  
me peculiarities and pers-  
pectives of thrombolytic  
enzyme biosynthesis by mi-  
xed cultures of microorga-  
nisms

- Давыдова Г.С., Рытик П.Г.,  
Бессчастнова А.П., Шатило Н.Л.,  
Шикова Л.В., Погуло А.И. Опыт  
разработки питательных сред  
для культивирования стрепто-  
кокка - продуцента стрептоки-  
назы . . . . . 68
- Шкуматова Л.Б., Вотяков В.И.,  
Колесниченко Т.Г., Голубков  
В.И., Тотолян А.А. Перекрест-  
ный фаголизис между штамма-  
ми стрептококков групп А и С 74
- Голубков В.И., Вотяков В.И.,  
Шкуматова Л.Б., Кныш Л.С.,  
Тотолян А.А. Клонирование  
штамма Н46А по продукции  
стрептокиназы . . . . . 78
- Голубков В.И., Колесниченко  
Т.Г., Ионтова И.М., Шкумато-  
ва Л.Б., Кныш Л.С. Генетиче-  
ское маркирование штаммов -  
продуцентов стрептокиназы в  
экспериментах межгрупповой  
трансдукции . . . . . 80
- Цвигун В.И., Рухманов Ю.П.,  
Брель Г.Ф. Лабораторный фер-  
ментационный стенд . . . . . 82
- Ткач В.М., Пленина Л.В., Каре-  
зо Н.В., Постоянова Н.И., Сিনি-  
цына Р.М., Пыжова Н.С., Ковале-  
ва Е.Б., Ястребова Т.И. Кон-  
центрирование и предваритель-  
ные этапы очистки стрептоки-  
назы . . . . . 86
- Пленина Л.В., Ткач В.М., Каре-  
зо Н.В., Пыжова Н.С. Примене-  
ние адсорбционной хроматогра-  
фии на силикагеле для очист-  
ки стрептокиназы . . . . . 89
- Ковалева Е.Б., Ткач В.М., Пыжо-  
ва Н.С. Хроматографическая  
очистка стрептокиназы на бен-  
зилхитиновом сорбенте . . . . . 94
- Пленина Л.В., Карезо Н.В. Ис-  
пользование сульфокатионитов  
при получении очищенных пре-  
паратов стрептокиназы . . . . . 98
- Шашкова Н.А., Лебедева В.В.,  
Самойлова Л.И., Кузнецов В.И.,  
Немирович-Данченко М.М. Опыт
- Davydova G.S., Rytic P.G.,  
Beschastnova A.P., Shatilo N.,  
Shikova L.V., Pogudo A.P. The  
experience of developing  
culture media for cultivati-  
on of streptococcus, a strep-  
tokinase producer
- Shkumatova L.B., Votyakov V.I.,  
Kolesnichenko T.G., Golubkov  
V.I., Totolyan A.A. Group A  
and C streptococcus strain  
cross phagolysin
- Golubkov V.I., Votyakov V.I.,  
Shkumatova L.B., Knysh L.S.,  
Totolyan A.A. The cloning  
of H46A strain according  
to streptokinase production
- Golubkov V.I., Kolesnichenko T.I.,  
Iontova I.M., Shkumatova L.B.,  
Knysh L.S. Genetic marking  
of streptokinase strain-pro-  
ducers in the experiments of  
interspecific transduction
- Tavigun V.I., Rukhmanov Yu.P.,  
Brel G.F. Laboratory ferment-  
er stand
- Tkach V.M., Plenina L.V., Ka-  
reso N.V., Poscoyanova N.I.,  
Sinitcina R.M., Pyzhova N.S.,  
Kovaleva E.B., Yastrebova T.I.  
Concentration and initial  
stages of streptokinase pu-  
rification
- Plenina L.V., Tkach V.M., Ka-  
reso N.V., Pyzhova N.S. The  
use of adsorbtion chromatog-  
raphy on silicagele for  
streptokinase purification
- Kovaleva E.B., Tkach V.M.,  
Pyzhova N.S. Chromatography  
purification of streptoki-  
nase on benzylchitin sorbent
- Plenina L.V., Karazo N.V. The  
use of sulfocationite in  
obtaining purified strepto-  
kinase preparations
- Shashkova N.M., Lebedeva V.V.,  
Samoilova L.I., Kuznetsov V.,  
Nemirovich-Danchenko M.M.

применения полиядерных пленок для стерилизующей фильтрации раствора стрептокиназы . . .	101	The use of polynuclear films for sterilizing fil- tration of streptokinase solution
Березов Т.Т., Левин Ф.Б., Со- рокина Л.В. Иммунизация некоторых протеолитических ферментов на тромбоцитах. .	104	Beresov T.T., Levin F.B., So- rokina L.V. Immobilization of some proteolytic enzymes on thrombocytes
Самсонов Г.В., Кольцова С.В., Шельх Г.И., Даниличев В.Ф. Получение и биологическое ис- следование урокиназы и ее им- мобилизованных форм . . .	107	Samsonov G.V., Koltsova S.V., Shelykh G.I., Danilichev V.F. Isolation and biological in- vestigation of urokinase and its immobilized forms
Кастрикина Т.Ф., Таран Л.Д., Кудинов С.А. Определение ак- тивности плазмина по нараст- анию свободных аминогрупп	113	Kastrikina T.F., Teran L.D., Kudinov S.A. The determina- tion of plasmin activity ba- sed on the rise of free ami- no groups
Чазов Е.И., Мазаяв А.В., Тор- чилин В.П., Смирнов В.Н., Су- ворова Л.А., Воронков Ю.И. Клиническая эффективность иммобилизованной стрептоки- назы (стрептодеказы) . . . .	118	Chazov E.I., Mazayav A.V., Torchilin V.P., Smirnov V.N., Suvorova L.A., Voronkov Yu.I. Clinical efficacy of the immobilized streptokinase (streptodekase)
Андреев Г.В. О тромболити- ческих свойствах стрептоки- назы . . . . .	127	Andreenko G.V. Concerning thrombolytic properties of streptokinase
Микуцкий Н.С., Шевчук А.П., Савченко А.Н., Вотяков В.И., Никандров В.Н., Рытик П.Г. Предварительные результаты о клинической апробации целиа- зы . . . . .	134	Mikutsky N.S., Shevchuk A.P., Savchenko A.N., Votyakov V.I., Nikandrov V.N. Preliminary data on the clinical trial of "celyase"
Терешин И.М. Создание иммуни- зированной стрептокиназы и ее тромболитические свойства. .	139	Tereshin I.M. Immobilized streptokinase and its throm- bolytic properties