

Влияние 6-аминогексановой кислоты и α_2 -антиплазмина на фибринолиз в исходной плазме, а также в плазмах, дефицитных по плазминогену и α_2 -антиплазмину

А. Е. Гуцало

Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины
252601, Киев, ул. Леонтовича, 9

С помощью турбидиметрического метода изучено влияние таких ингибиторов, как 6АГК и α_2 -АР на фибринолиз, индуцированный стрептокиназой, в плазме здоровых доноров, а также в плазминоген- и (плазминоген + α_2 -антиплазмин)-дефицитных плазмах. Было показано, что как 6АГК (0—150 мкМ), так и α_2 -АР (0—0,432 мкМ) связываются только с одним участком молекулы плазминогена. При этом, в отличие от «чистой» системы, не наблюдалось ингибиторного действия 6АГК на α_2 -АР в стандартной плазме. Наоборот, при одновременном внесении 6АГК и α_2 -АР отмечен суммарный эффект ингибиторов на процесс фибринолиза. На основании анализа характера турбидиметрических кривых сделано предположение о том, что 6АГК ингибирует первую стадию фибринолиза, тогда как α_2 -АР замедляет вторую (ускоренную) стадию этого процесса. При изучении действия 6АГК на фибринолиз в плазминоген- и (плазминоген + α_2 -АР)-дефицитных плазмах было показано, что зависимость времени полулизиса от концентрации 6АГК имеет параболический характер, в то время как в стандартной плазме она является линейной. Механизм такого действия обсуждается.

Введение. Плазминоген (Pg) является проферментом сериновой протеиназы — плазмина (Pm), осуществляющего в плазме фибринолитическую функцию. Pg связывается с фибрином посредством так называемых лизин-связывающих участков [1], расположенных в кринглах (К) N-концевой части молекулы Pg. В настоящее время известно пять таких кринглов, обладающих различным сродством к ω -аминокарбоновым кислотам. Лизин-связывающие участки играют важную роль во взаимодействии плазмин(оген)а с α_2 -антиплазмином (α_2 -АР) [2, 3], который быстро и необратимо инактивирует освобождающийся в кровотоке Pm после гидролиза фибрина. Посредством лизин-связывающих участков осуществляется взаимодействие плазминогена как с белками плазмы: гистидин-богатый белком (HRGP) [4], тетранектином [5], карбоксипептидазой В [6], фибронектином [7], липопротеином (а) [8,], тромбоспондином [9], так и с белками экстрацеллюлярного матрикса [7, 10]: витронектином, ламинином и другими, а также рецепторами клеток [11, 12].

Изучению роли различных лизин-связывающих участков Pg на отдельных этапах фибринолиза в чистой системе посвящено большое число работ, благодаря которым показана важная роль K1 и K5 на начальных этапах фибрин(оген)олиза, при расщеплении фибрин(оген)а до X-фрагментов [13—16] и особая роль K4 при расщеплении X-фрагментов на более

низкомолекулярные продукты гидролиза [16—18]. Механизм действия плазминогена в плазме практически не изучен. Целью настоящего исследования было изучение влияния низких концентраций 6-аминогексановой кислоты (БАГК) на скорость фибринолитического процесса в нормальной плазме, α_2 -АР-дефицитной плазме, а также в плазме с высоким содержанием α_2 -АР.

Материалы и методы. Бедную тромбоцитами человеческую плазму получали, центрифугируя венозную кровь человека, стабилизированную 3,8 %-м цитратом натрия (9:1), в течение 10 мин при 1500 об/мин, а затем 20 мин при 3000 об/мин.

Pg-дефицитную плазму получали пропусканием исходной донорской плазмы через колонку с избыточным объемом лизин(Lys)-сефарозы. (Pg+ α_2 -АР)-дефицитную плазму получали, пропуская исходную плазму через последовательно соединенные колонки с Lys- и K1-3-сефарозой.

Наличие Pm-активности в исходной плазме определяли спектрофотометрически. В спектрофотометрическую кювету вносили плазму, буфер, инкубировали при температуре 37 °С в течение 3 мин, затем добавляли тромбин до конечной концентрации 5 НИН/мл. Конечный объем смеси составлял 1 мл. Смесь перемешивали и регистрировали изменение светорассеяния на протяжении 1,5 ч при $\lambda=350$ нм. После образования сгустка никакого уменьшения светорассеяния не наблюдалось.

Pg- и (Pg+ α_2 -АР)-дефицитные плазмы тестировали на наличие Pg аналогичным образом, но добавляя в инкубационную среду активатор Pg стрептокиназу (Sk) («Veridase», Венгрия). В течение 1,5 ч лизиса сгустка не отмечено.

Для изучения влияния БАГК на ингибирование фибринолиза в плазмах применяли турбидиметрический метод [19—21], в основе которого лежит определение $t_{1/2}$ -времени полулизиса сгустка ($t_{1/2}$ — время, в течение которого E_{350} тах образования сгустка уменьшается наполовину).

Для разведения плазмы и приготовления всех растворов при исследовании фибринолиза турбидиметрическим методом использовали 0,02 М медианаловый буфер, pH 7,4, содержащий 0,13 М NaCl, 1 мМ CaCl₂, 0,02 % NaN₃. В работе применяли растворы бычьего тромбина в концентрации 100 НИН/мл (Каунас), Sk («Veridase») — 2500 Ед/мл. Тромбин и Sk до внесения в кювету хранили в воде со льдом.

Количество фибриногена (Fg) в плазмах определяли по методу Варецкой [22]. Конечная концентрация Fg в эксперименте составляла 0,2 мг/мл. Разлитую по аликвотам плазму хранили при температуре -20 °С и размораживали для использования в эксперименте при 37 °С в течение 3 мин.

Образование и гидролиз фибринового сгустка регистрировали спектрофотометрически на СФ-46 («Ломо», Россия), снабженном термостатируемой кюветой (37 °С). Анализ ингибирования в исходной плазме БАГК и α_2 -АР проводили следующим образом: в спектрофотометрическую кювету вносили последовательно плазму, буфер, БАГК и/или α_2 -АР, перемешивали и инкубировали при 37 °С 3 мин, затем быстро вносили раствор Sk (конечная концентрация 12 Ед/мл) и тромбина (конечная концентрация 5 НИН/мл). Суммарный объем всех реагентов составлял 1 мл.

Количество вносимых единиц Sk подбирали экспериментально таким образом, чтобы наименьшему количеству активатора, не обладающего собственной протеазной активностью, соответствовало минимальное время полулизиса сгустка.

В экспериментах по исследованию влияния БАГК на фибринолиз в Pg- и (Pg+ α_2 -АР)-дефицитных плазмах в систему вносили такое количество Pg, чтобы время полулизиса в отсутствие антифибринолитика в этих плазмах

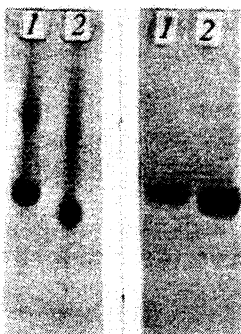


Рис. 1. Электрофорез препаратов Glu-плазминогена в 11 %-м полиакриламидном геле при pH 3,2 (1) и Lys-плазминогена (2)

Рис. 2. Электрофорез препарата α_2 -антиплазмина в 10 %-м полиакриламидном геле с 0,1 %-м DS-Na: 1 — без восстановителя; 2 — в присутствии 4 %-го 2-меркаптоэтанола

равнялось таковому в исходной плазме. Для P_g-дефицитной плазмы это количество составляло 0,063 мкМ, а для (P_g+ α_2 -AP)-дефицитной — 0,0225 мкМ.

Glu-P_g получали методом аффинной хроматографии на Lys-сефарозе [23]. Выделенный белок представлял собой Glu-форму (рис. 1). Казеинолитическая активность указанного P_g составляла 12,9 к. е./мг белка. Титрование активных центров этого P_g по p-NPGV показало его 80 %-ю активность. P_g хранили при -20 °С в аликвотах.

α_2 -AP был получен аффинным хроматографированием плазмы на K1-сефарозе с дальнейшей очисткой на Sephadex G-200 [24]. α_2 -AP представлял собой электрофоретически гомогенный белок (рис. 2), содержащий 54,8 % активного ингибитора (титрование по S2251). α_2 -AP, разлитый по аликвотам, хранили при -20 °С.

Результаты и обсуждение. В присутствии БАГК в концентрациях от 5 до 150 мкМ в исходной плазме наблюдалось линейное увеличение времени полулизиса сгустка, $t_{1/2}$, свидетельствующее о том, что в данном интервале концентраций БАГК влияет только на один центр связывания комплекса P_g — Sk с фибрином (рис. 3, а).

Мы предположили, что такой центр находится в K1 молекулы плазминогена. Это согласуется с данными других авторов, полученными для плазм, в которых найдена константа ингибирования фибринолиза плазминогеном, активированным Sk ($K = 9$ мкМ) и БАГК. Однако при этом ряд авторов [13, 14, 36] высказывает предположение о преимущественной роли K5 на начальных этапах связывания P_g с фибрином.

Использованные нами концентрации БАГК заставляют все же думать об участии K1, поскольку в нем расположен сильный лизин-связывающий

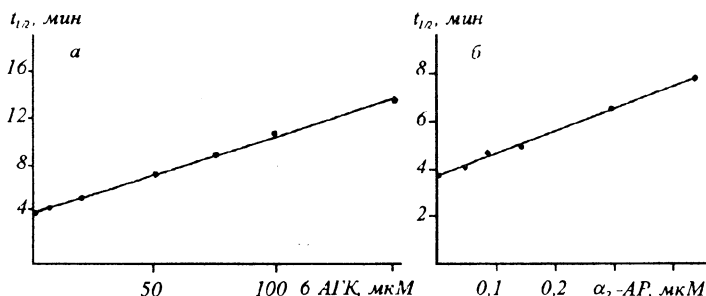


Рис. 3. Влияние БАГК (а) и α_2 -антиплазмина (б) на время полулизиса в исходной плазме

участок, K_d которого для связывания с БАГК составляет, как известно, 3,2 [25], 9 [1] и 16,7 мкМ [26], в то время как минимальная K_d для комплекса изолированного К5 с БАГК равна 64 мкМ [25]. Но поскольку 50%-е уменьшение времени полулизиса наблюдалось нами при концентрации БАГК 40 мкМ, нельзя исключить и участия К5 на стадии связывания плазминогена с фибрином.

Исходя из того, что Sk связывается только с С-концевым участком Pg [27], а связывание плазминогена на начальных стадиях гидролиза фибринового сгустка осуществляется в основном за счет лизин-связывающих участков, расположенных в N-концевой части молекулы плазминогена, можно предположить, что влияние Sk не нарушает связывания плазминогена с фибрином, по крайней мере, на первоначальных стадиях гидролиза фибрина.

При добавлении α_2 -АР к исходной плазме отмечено также линейное увеличение $t_{1/2}$ в зависимости от концентрации α_2 -АР в пределах от 0,045 до 0,432 мкМ, что также свидетельствует об участии одного центра связывания плазмин(оген)а с α_2 -антиплазмином (рис 3, б).

БАГК и α_2 -АР проявляли различный характер влияния на процесс ингибирования фибринолиза. Так, БАГК заметно удлиняла плато кривой светорассеяния, при этом угол ее наклона, соответствующий развалу сгустка, изменялся незначительно при низких концентрациях БАГК и плавно увеличивался при возрастании концентрации БАГК. При добавлении же α_2 -АР длина плато кривой светорассеяния соответствовала таковой в исходной плазме, а время полулизиса сгустка увеличивалось только за счет изменения угла наклона кривой (рис. 4).

Как показано ранее [28], при лизисе сгустка участок плато кривой светорассеяния соответствует появлению X1- и X2-фрагментов фибрина, в то время как уменьшение светорассеяния связано с развалом сгустка и образованием в системе сначала Y-, а затем и D-фрагментов фибрина.

Поэтому можно предположить, что БАГК в низких концентрациях ингибирует фибринолиз, препятствуя первоначальному связыванию Pg с фибрином за счет К1 (или К5). α_2 -АР, напротив, не мешает связыванию плазминогена с фибрином, но ингибирует второй этап фибринолиза: образование Y-фрагментов, вероятно, ингибируя при этом образовавшийся на поверхности сгустка плазмин. Как известно [13, 16, 29], на этапе расщепления X-мономеров основная роль в разрушении фибринового сгустка принадлежит К4, а освободившийся К1 может, таким образом, связываться с α_2 -АР и ингибировать дальнейшее расщепление фибрина.

Наши результаты согласуются с данными, представленными в работе [30], о влиянии α_2 -АР на Glu-Pg, активированный тканевым активатором плазминогена, в нормальной и α_2 -АР-дефицитной плазме. Авторы пришли к выводу о том, что формирование обратимого комплекса между Pg и α_2 -АР не мешает связыванию и активации плазминогена на поверхности фибрина, но ингибирование плазмينا α_2 -антиплазмином значительно уменьшает (на 42 %) количество плазминоген-связывающих участков (С-терминальных

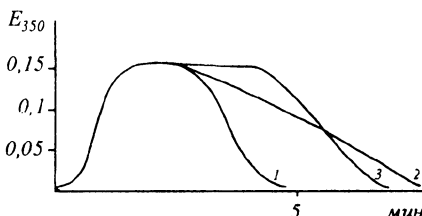


Рис. 4. Типичные кривые, характеризующие изменения светорассеяния в процессе образования и лизиса сгустка в исходной плазме: 1 — в отсутствие ингибиторов; 2 — в присутствии α_2 -антиплазмина и 3 — БАГК

лизинов) на поверхности фибринового сгустка и ингибирует таким образом ускоренную фазу фибринолиза.

С другой стороны, поскольку доказана важная роль К4 на второй стадии гидролиза фибрина плазмином [13, 16, 29], можно предположить, что ингибирование плазмينا α_2 -антиплазмином происходит также за счет связывания последнего с К4 плазмина, хотя это и противоречит известным фактам о том, что α_2 -АР обладает наибольшим сродством к К1-3-плазминогену [3, 31, 32]. Последние данные по изучению взаимодействия Рm с α_2 -АР методом остановленного потока свидетельствуют о вовлечении К4 и/или К5 в ингибирование реакции быстрой ассоциации Рm с α_2 -АР [33].

Эксперименты с последовательным добавлением БАГК и α_2 -АР к исходной плазме показывают аддитивный характер влияния этих ингибиторов на ингибирование фибринолиза (рис. 4): удлиняется как плато кривой светорассеяния, так и скорость лизиса сгустка.

Вопреки данным литературы о том, что в чистой системе БАГК в концентрации 20—25 мкМ на 50 % уменьшает скорость реакции Рm — α_2 -АР [31, 32], в плазме не наблюдалось уменьшения ингибирования комплекса Рg — Sk α_2 -антиплазмином в присутствии БАГК. Этот факт дает основание предположить, что в плазме БАГК и α_2 -АР ингибируют различные этапы фибринолиза.

Наши данные об ингибировании α_2 -антиплазмином второй стадии фибринолиза согласуются с данными других авторов [34] о том, у пациентов с пониженным уровнем α_2 -АР (менее 60 % от нормы) наблюдалось низкое соотношение высокомолекулярных продуктов деградации фибриногена к низкомолекулярным.

При сравнения влияния БАГК на фибринолиз в исходной, Рg- и (Рg+ α_2 -АР)-дефицитной плазме нами были получены неожиданные результаты.

Исходную систему для Рg- и (Рg+ α_2 -АР)-дефицитных плазм подбирали таким образом, чтобы начальная точка $t_{1/2}$ в отсутствие БАГК была такой же, как и для исходной плазмы. Для Рg- и (Рg+ α_2 -АР)-дефицитных плазм концентрации внесенного плазминогена составляли соответственно 0,063 и 0,0225 мкМ. Значение 0,063 мкМ близко к теоретически рассчитанной величине (0,089 мкМ) концентрации плазминогена в плазме, которая приходится на 0,2 мг/мл фибриногена, использованного в опытах.

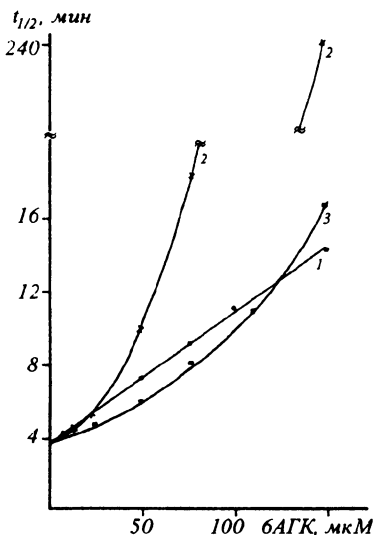


Рис. 5. Влияние БАГК на время полулизиса в плазмах: 1— исходной; 2— Рg-дефицитной; 3— (Рg+ α_2 -АР)-дефицитной

Как видно из рис. 5, в P_g-дефицитной плазме (кривая 2) параболическая зависимость времени полулизиса сгустка от концентрации БАГК свидетельствует о более чем одном участке связывания плазминогена с БАГК в отличие от исходной плазмы.

Однозначно объяснить причину такого характера ингибирования плазминогена не представляется возможным, однако можно высказать несколько предположений:

1. В процессе выделения P_m претерпевает какие-то конформационные изменения, в результате которых он переходит в более открытую конформацию [35] и в нем открываются новые центры для связывания с БАГК. Так, было показано, что Glu-плазминоген связывался с фибрином посредством двух участков связывания с $K_d = 10$ и 440 мкМ [36].

2. В процессе получения P_g-дефицитной плазмы на Lys-сефарозе связывается, кроме P_g, еще какой-то белок (или белки), который в исходной плазме взаимодействует либо с самим P_g, либо модулирует его связывание с фибрином. Таким белком, возможно, является липопротейн (а), обладающий способностью связываться с Lys-сефарозой [37], ингибирующий активацию P_g тканевым активатором плазминогена [37, 38] и связывание плазминогена с иммобилизованным фибрином [39], а также связывающийся с P_g в присутствии фибрина [8].

Возможно, что в плазме белки, имеющие сродство к фибрину и плазминогену, такие как фибронектин, тетранектин (обладающий аффинностью к K4 плазминогена), липопротейн (а) и другие, взаимодействуют определенным образом и удаление одного из них приводит к изменению связывания плазминогена с фибрином.

В (P_g + α_2 -AP)-дефицитной плазме (см. рис. 4, кривая 3) наблюдается тот же нелинейный характер зависимости времени полулизиса сгустка от концентрации БАГК, однако ингибирование выражено значительно слабее. Это можно объяснить отсутствием как α_2 -антиплазмина, ингибирующего образующийся плазмин, так и гистидин-богатого белка. Как известно, гистидин-богатый белок связывается с K1-3-сефарозой и способен ингибировать фибринолиз плазминогеном, активированным тканевым активатором плазминогена [4].

Оба эти предположения носят гипотетический характер и требуют дальнейшего исследования.

О. Е. Гуцало

Вплив 6-аміногексанової кислоти та α_2 -антиплазміну на фібриноліз у стандартній плазмі, а також у плазмах, дефіцитних по плазміногену та α_2 -антиплазміну

Резюме

За допомогою турбідиметричного методу вивчено вплив таких інгібіторів, як БАГК та α_2 -AP на фібриноліз у плазмі здорових донорів та плазмах, дефіцитних по плазміногену та α_2 -антиплазміну. Фібриноліз був індукований додаванням стрептокінази. Показано, що як БАГК (0—150 мкМ), так і α_2 -AP (0—0,432 мкМ) зв'язуються лише з однією ділянкою молекули плазміногена. При цьому, на відміну від «чистої» системи, не спостерігалось інгібуючої дії БАГК на α_2 -AP у стандартній плазмі. Навпаки, при одночасному внесенні БАГК і α_2 -AP відмічено аддитивний гальмівний вплив цих інгібіторів на процес фібринолізу. На основі аналізу характеру турбідиметричних кривих зроблено припущення про те, що БАГК гальмує першу стадію фібринолізу, в той час як α_2 -AP уповільнює другу (прискорену) стадію цього процесу. При вивченні впливу БАГК на фібриноліз у плазмах, дефіцитних по плазміногену та (плазміногену + α_2 -AP), було показано, що залежність часу напівлізісу від концентрації БАГК має параболический характер, тоді як у стандартній плазмі вона є лінійною. Механізм такої дії БАГК обговорюється.

The influence of 6AHA and α_2 -antiplasmin on the fibrinolysis in normal, Pg-deficient and (Pg+ α_2 -antiplasmin)-deficient plasmas studied by turbidimetric method

Summary

It has been shown that in normal plasma both 6AHA and α_2 -AP binds only with one site of Pg activated by streptokinase. At has been demonstrated however that 6AHA (in micromolar concentrations) and α_2 -AP effects on the different stages of fibrinolysis: 6AHA prevents the binding of Pg to fibrin (first stage of fibrinolysis), while α_2 -AP does not influence on this stage but delays the accelerated (second) stage of fibrinolysis. The mechanism of such action is discussed. At has been also stated that 6AHA possesses no inhibitory effect on α_2 -AP during fibrinolysis in plasma. On the contrary to the pure system 6AHA potentiated the inhibitory influence of α_2 -AP on the fibrinolysis in plasma in micromolar concentrations. When the action of 6AHA on the Pg-deficient and (Pg + α_2 -AP)-deficient plasma was studied, it has been show that the dependence of clot halflysis from concentration of 6AHA has parabolic character as opposed to normal plasma where it has linear character. The mechanism of such action is hypothesized.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Marcus G., De Pasquale J. L., Wissler F. C. Quantitative determination of binding 6-AHA to native plasminogen // J. Biol. Chem.—1978.—253, N 3.—P. 727—732.
2. Wiman B. Human α_2 -antiplasmin. Physiological role // Meth. Enzymol.—1981.—80.—P. 395—408.
3. Lijnen H. R., Collen D. Proteinase inhibitors.—Amsterdam: Elsevier Sci. publ. BV, 1986.—P. 457—476.
4. Lijnen H. R., Hoylaerts M., Collen D. Isolation and characterization of human plasma protein with affinity for the lysine binding sites in plasminogen // J. Biol. Chem.—1980.—255, N 21.—P. 10214—10222.
5. Clemmensen I., Petersen L., Klauft C. Purification and characterization of novel, oligomeric plasminogen K4 binding protein from human plasma: tetranectin // Eur. J. Biochem.—1986.—156, N 2.—P. 327—333.
6. Eaton D. L., Malloy B. E., Tsui S. P. et al. Isolation, molecular cloning and partial characterization of novel carboxypeptidase B from human plasma // J. Biol. Chem.—1991.—266, N 32.—P. 21833—21838.
7. Moser T. M., Enghild J. J., Pizzo S. V. Interaction of urinary-type plasminogen activator with extracellular matrix proteins: specific binding to vitronectin // Fibrinolysis.—1994.—8, Suppl. 1.—P. 34.
8. Liu J., Harpel P. C., Gurewich V. Fibrin-bound lipoprotein (a) promotes plasminogen binding but inhibits fibrin degradation by plasmin // Biochemistry.—1994.—33, N 9.—P. 2554—2560.
9. De Poli P., Bacon-Baguley T., Kendra-Franczak S. et al. Thromboplastin interaction with plasminogen. Evidence for binding to a specific region of the kringle structure of plasminogen // Blood.—1989.—73.—P. 976—982.
10. Morris C. A., Underwood P. A., Bean P. A. et al. Relative topography of biologically active domains of human vitronectin // J. Biol. Chem.—1994.—269, N 38.—P. 23845—23852.
11. Gonzelez-Gronow J. M., Edelberg J. M., Pizzo S. V. Further characterization of the cellular plasminogen binding site. Evidence that plasminogen 2 and lipoprotein a complete for the same site // Biochemistry.—1989.—28, N 6.—P. 2374—2377.
12. Redlitz A., Plow E. F. Serum carboxypeptidase are regulator for the assembly of the fibrinolytic system on cell surfaces // Fibrinolysis.—1994.—8, Suppl. 1.—P. 9.
13. Wu H.-L., Chang B. I., Wo D.-H. et al. Interaction of plasminogen and fibrin in plasminogen activation // J. Biol. Chem.—1990.—265, N 32.—P. 19658—19664.
14. Lucas M. A., Fretto L. J., McKee P. A. The binding of human plasminogen to fibrin and fibrinogen // Ibid.—1983.—258, N 7.—P. 4249—4256.
15. Shi G. V., Wu D. H., Good C. C. et al. The binding of plasminogen fragments to fibrin // Fibrinolysis.—1990.—4, Suppl. 3.—P. 270.
16. Золотарева Э. Н. Изучение роли лизин- и аргинин-связывающих участков плазмина на начальных этапах гидролиза фибриногена // Биополимеры и клетка.—1995.—11, № 3—4.—С. 96—103.
17. Suenson E., Petersen L. C. Exact temporal correlation of the rapid phase of tPA catalysed plasminogen activation during fibronolysis, with plasminogen binding to the D. D. E-domains of fragment X polymers // Fibrinolysis.—1989.—3, Suppl. 1.—P. 17.
18. Андрианов С. И., Макогоненко Е. М., Кудинов С. А. Роль кринглов K4 и K5 тяжелой цепи молекулы плазмина в разрушении структуры фибринового сгустка // Укр. биохим. журн.—1992.—64, № 2.—С. 31—38.

19. Bovier C. A., Beretta-Biccoli M., Giacometti N. Progress in clinical fibrinolysis and thrombolysis.—New York: Raven press, 1975.—P. 281—288.
20. Соколовская Л. И., Лежен Т. И., Макогоненко Е. М. Применение турбидиметрического метода для изучения кинетики ингибирования фибринолиза в разбавленной плазме крови // Укр. биохим. журнал.—1994.—66, № 5.—С. 47—51.
21. Макогоненко Е. М., Курна С. А., Луговской Э. В. и др. Кинетика активации Глу и Лиз-плазминогена тканевым активатором в фибриновом сгустке // Биохимия.—52, № 10.—С. 1746—1752.
22. Белищев В. А., Варецкая Т. В., Бутылин Ю. П., Царюк Л. Э. Определение фибриногена в плазме крови // Лаб. дело.—1983.—№ 4.—С. 38—42.
23. Castellino F. J., Powell J. R. Human plasminogen // Meth. Enzymol.—1981.—80.—P. 365—378.
24. Wiman B. Affinity chromatographic purification of human α_2 -antiplasmin // Biochem. J.—1980.—191, N 1.—P. 229—232.
25. Мацука Ю. В. Локализация и структурная характеристика лизин-связывающих участков молекулы плазминогена: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Киев, 1989.—17 с.
26. Lerch P. J., Rickli E. E., Lergier W. et al. Localization of individual lysine-binding regions in human plasminogen and investigation of their lysine-binding properties // Eur. J. Biochem.—1980.—107, N 1.—P. 127—132.
27. Summaria L., Robbins K. S. Isolation of human plasmin-derived, functionally active, light (B) chain capable of forming with streptokinase an equimolar light (B) chain:streptokinase complex with plasminogen activator activity // J. Biol. Chem.—1976.—251, N 18.—P. 5810—5813.
28. Макогоненко Е. М., Колесник Л. А. Разрушение фибринового сгустка фибринолитической системой и механизм его регуляции // Биохимия животных и человека.—1989.— № 3.—С. 55—64.
29. Золотарева Э. Н. Изучение роли лизин- и аргинил-связывающих участков плазмина на отдельных этапах гидролиза фибриногена: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.—Киев, 1995.—17 с.
30. Angles-Cano E., Rouy D., Lijnen H. R. Plasminogen binding by α_2 -antiplasmin and HRGP does not inhibit plasminogen activation at the surface of fibrin // Biophys. et biochim. acta.—1992.—1156, N 1.—P. 34—42.
31. Wiman B., Lijnen H. R., Collen D. On the specific interaction between the lysine-binding sites in plasmin and complementary sites in α_2 -antiplasmin and in fibrinogen // Ibid.—1979.—579, N 1.—P. 142—154.
32. Holvoet P., Lijnen H. R., Collen D. A monoclonal antibody directed against the high affinity lysine-binding site (LBS). Role of LBS in the regulation of fibrinolysis // Eur. J. Biochem.—1986.—157, N 1.—P. 65—69.
33. Bangert K., Thorsen S., Christensen V. Stopped-flow fluorescence kinetics of the reaction of α_2 -plasmin inhibitor with plasmin // Fibrinolysis.—1994.—8, Suppl. 1.—P.30.
34. Okajima K., Soc G., Kohno I. et al. Direct evidence for fibrinolysis in patients with acquired α_2 -antiplasmin deficiency // Thrombosis and haemostasis: XIIIth Congr. of the Int. Soc.— Amsterdam, 1992.—P. 780.
35. Ponting C. P., Marshall J. M., Cederholm-Williams S. A. Plasminogen: a structural review // Blood Coagulation and Fibrinolysis.—1992.—3.—P. 605—614.
36. Lucas M. A., Fretto L. J., McKee P. A. Binding of human plasminogen to fibrin and fibrinogen // J. Biol. Chem.—1983.—258, N 7.—P. 4249—4256.
37. Leerink B. C., Duif P. F., Gimpel J. A. et al. Lysine-binding heterogeneity of Lp(a): consequences for fibrin binding and inhibition of plasmin activation // Thromb. and Haemost.—1992.—68, N 2.—P. 185—188.
38. Harpel P. C., Gordon B. R., Parker T. C. Plasmin catalyzes binding of lipoprotein (a) to immobilized fibrinogen and fibrin // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1989.—86, N 10.— P. 3847—3851.
39. Rouy D., Laplaud P. M., Saboreau M., Angles-Cano E. Hedhedog lipoprotein (a) is a modulator of activation of plasminogen at the fibrin surface. An *in vivo* study // Arteriosclerosis and Thrombosis.—1992.—12, N 2.—P. 146—154.