

Тромболитическая терапия ишемического инсульта

Е.И. ГУСЕВ¹, М.Ю. МАРТЫНОВ^{1*}, А.Н. ЯСАМАНОВА¹, А.А. НИКОНОВ¹, С.С. МАРКИН², А.М. СЕМЕНОВ²

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия; ²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва, Россия

Реперфузионная терапия является одним из основных направлений лечения ишемического инсульта (ИИ). Первые исследования эффективности тромболитических препаратов при ИИ начались с применения стрептокиназы и фибринолизина в конце 50-х — начале 60-х годов XX века в Северной Америке, Советском Союзе и Европе. В дальнейшем, после создания рекомбинантного тканевого активатора плазминогена, тромболитическая терапия стала одним из основных методов реперфузии при ИИ, инфаркте миокарда и других острых сосудистых поражениях. Затем на основе рекомбинантного тканевого активатора плазминогена были созданы его модифицированные варианты, отличающиеся временем полувыведения, фибрин-селективностью и болюсным введением. Другой группой тромболитических препаратов являются производные растительного и животного мира — внешние активаторы плазминогена, из которых наиболее активно применяются стрептокиназа, стафилокиназа и десмотеплаза. Эти препараты не являются структурной частью человеческого организма, и преодоление иммуногенности при одновременном сохранении фибринолитической активности и фибрин-специфичности — одна из основных задач при внедрении их в клиническую практику.

Ключевые слова: ишемический инсульт, тромболитическая терапия, плазминоген, плазмин, активаторы плазминогена, альтеплаза, тенектеплаза, ретеплаза, ланотеплаза, памитеплаза, монтеплаза, стрептокиназа, стафилокиназа, десмотеплаза.

Thrombolytic therapy of ischemic stroke

E.I. GUSEV, M.YU. MARTYNOV, A.N. YASAMANOVA, A.A. NIKONOV, S.S. MARKIN, A.M. SEMENOV

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia; Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

Reperfusion therapy is one of the main treatment strategies of ischemic stroke. The first studies of the efficacy of thrombolytic medications started from the use of streptokinase and fibrinolytin in patients with ischemic stroke in late 50 — early 60 of the XX century in the United States, Soviet Union, and Western Europe. After the development of recombinant tissue plasminogen activator, thrombolysis became one of the main methods of reperfusion in patients with acute ischemic stroke, acute myocardial infarction, or other acute vascular thrombotic events. Later, modified variants of tissue plasminogen activator with prolonged clearance time, high fibrin-selectivity, and bolus delivery were introduced. Another group of thrombolytic agents includes derivatives of flora and fauna — external plasminogen activators, of which streptokinase, staphylokinase, and desmoteplase are most common drugs. These medications are not a structural part of the human organism, and overcoming of immunogenicity while preserving fibrinolytic activity and fibrin specificity is one of the main tasks in applying them in clinical practice.

Keywords: ischemic stroke, thrombolysis, plasminogen, plasmin, plasminogen activators, alteplase, tenecteplase, reteplase, lanoteplase, pamiteplase, monteplase, streptokinase, staphylokinase, desmoteplase.

Ишемический инсульт (ИИ) — одна из ведущих причин смертности и инвалидизации во всем мире [1]. Основным направлением ведения больных в первые часы ИИ является восстановление кровотока, в частности тромболитическая терапия (ТЛТ) [2].

Клиническое применение тромболитических препаратов началось с терапии стрептокиназой острого инфаркта миокарда (ОИМ) [3]. В Советском Союзе первые результаты лечения ОИМ фибринолизином были опубликованы в 1962 г. Е.И. Чазовым и Г.В. Андреенком [4]. При ИИ первый опыт применения тромболитических препаратов был опублико-

ван в США в 1958 г. [5]. У 3 больных с окклюзией в бассейне внутренней сонной артерии через 6—18 ч после развития симптоматики внутривенно вводился фибринолизин в дозах 50 000—100 000 ЕД. Полная или частичная реканализация и незначительное уменьшение очаговых симптомов наступили у 2 больных. В Советском Союзе ТЛТ при ИИ была начата в первой половине 60-х годов во 2-м Московском [6] и в Свердловском [7, 8] медицинских институтах, а также в НИИ неврологии АМН СССР сочетанием фибринолизина с гепарином [9, 10]. В этих исследованиях была показана эффективность применения

Таблица 1. Показания и противопоказания к применению фибринолизин-гепариновой смеси при ИИ [6—10]*

Показатель	Показания	Противопоказания
Время от начала заболевания	До 6 ч после развития неврологических симптомов. Максимальная эффективность в первые 3 ч заболевания	Более 6 ч после развития неврологических симптомов
Артериальное давление (АД)	<180/100 мм рт.ст.	>180/100 мм рт. ст.
Сопутствующие заболевания/состояния	—	Геморрагический синдром, геморрагические осложнения
Уровень сознания	Ясное, оглушение	Сопор, кома
Менингеальный синдром	Отсутствует	Имеется

Примечание. * — фибринолизин-гепариновая смесь вводилась внутривенно капельно на догоспитальном этапе (скорая медицинская помощь или на дому) в дозировке: фибринолизин — 20 000 ЕД, гепарин — 10 000 ЕД; в условиях стационара: фибринолизин — 20 000—30 000 ЕД, гепарин — 10 000—15 000 ЕД.

фибринолизин-гепариновой смеси в первые 3—6 ч от начала ИИ, в том числе на догоспитальном этапе, и определены основные показания/противопоказания к фибринолитической терапии (**табл. 1**). В то же время широкое клиническое внедрение ТЛТ было отложено вследствие отсутствия точной диагностики характера церебрального инсульта и значительной частоты геморрагических осложнений.

Новый этап в развитии ТЛТ при ИИ начался с внедрения в клиническую практику рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (ТАП) [11, 12] в сочетании с КТ/МРТ-диагностикой характера инсульта. В настоящее время частота ТЛТ в Европе и Северной Америке составляет 5—15% [13, 14]. Также расширяется число тромболитических процедур, проведенных на догоспитальном этапе в машинах скорой медицинской помощи [15] и у пациентов старшего возраста [16]. В Российской Федерации число ТЛТ при ИИ в 2017 г. превысило 13 500 процедур [17], а, по данным Департамента здравоохранения, за первые 6 мес 2018 г. в Москве ТЛТ была проведена 18,7% больных с ИИ, поступивших в первые 4,5 ч заболевания в специализированные сосудистые центры.

Классификация тромболитических препаратов и механизмы действия

В настоящее время выделяют следующие группы тромболитических препаратов:

I. Препараты, оказывающие прямое протеолитическое действие на фибрин: активированный человеческий плазмин (фибринолизин) и его модифицированные формы: миниплазмин, микроплазмин, дельта-плазмин и др.

II. Препараты, активирующие образование плазмина из плазминогена: внутренние и внешние активаторы плазминогена.

III. Препараты, включающие комбинации плазмина с активаторами плазминогена.

Механизм активации плазминогена

Для фибринолиза необходима активация плазминогена до плазмина, которая осуществляется посредством расщепления связи в плазминогене между аргинином (Arg-561) и валином (Val-562) [18]. Расщепление этой связи достигается активаторами

плазминогена. В случае с ТАП сначала образуется комплекс ТАП—фибрин, на котором фиксируется плазминоген. Образование тройного комплекса ТАП—фибрин—плазминоген является сигнальным механизмом для активации плазминогена и превращения его в плазмин [19].

Скорость активации плазминогена в значительной степени зависит от третичной структуры молекулы плазминогена и доступности лизиновых окончаний фибрина [20—22]. Молекула плазминогена может иметь закрытую третичную структуру в виде спиралевидной α -конформации — Glu-плазминоген, которая является основной в кровотоке и устойчивой к активаторам [20, 23]. При контакте плазминогена с интактным фибрином в тромбе происходит отщепление N-концевого участка молекулы плазминогена и образование частично активной переходной формы с β -конформацией [24, 25]. Исходно β -плазминоген обладает незначительной фибринолитической активностью, однако, вступая в контакт с лизиновыми окончаниями молекулы фибрина, переходит в активный Lys-плазминоген с открытой γ -конформацией [23, 24, 26]. По мере нарастания фибринолиза увеличивается количество лизиновых окончаний на фрагментах фибрина, что способствует еще большей активации плазминогена, его активному превращению в плазмин и соответствующему усилению фибринолиза [27].

Внутренние активаторы плазминогена

ТАП

Основными внутренними активаторами плазминогена являются тканевой и урокиназный активаторы. Тромболитический эффект ТАП (исходное название — фиброкиназа) был установлен в конце 40-х годов XX века [28, 29]. В 1979 г. был выделен высокоочищенный ТАП [30], затем клонирован ген и синтезирован рекомбинантный вариант [31]. В последующем были созданы модифицированные варианты ТАП, отличающиеся временем полувыведения, фибрин-селективностью и возможностью болюсного введения (**табл. 2**).

Исходно молекула ТАП является одноцепочечной и состоит из 527 аминокислот с 5 функциональ-

Таблица 2. Рекомбинантный ТАП и его производные

Название (МНН)	Время полувыведения/способ введения	Строение	Фибрин-селективность	Показания к применению
Альтеплаза (Alteplase)	$T_{1/2}=5-7$ мин/ внутривенно капельно	527 аминокислот, 5 доменов (F, G, K1, K2 и P)	Умеренная	ОИМ*, ИИ*, ТЭЛА*
Тенектеплаза (Tenecteplase)	$T_{1/2}=20-25$ мин/ внутривенно болусно	527 аминокислот и 5 доменов. Изменения включают замены в положениях 103 (аспарагин на треонин) и 117 (глутамин на аспарагин) для увеличения времени полувыведения и возможности болусного введения и в 296—299 позициях (замена лизина, гистидина и 2 молекул аргинина на 4 молекулы аланина) для уменьшения взаимодействия с ингибитором PAI-1	Высокая	ОИМ*, ИИ#
Ретеплаза (Retepase)	$T_{1/2}=15-20$ мин/ внутривенно болусно	Удалены домены F, G, K1, что увеличило время полувыведения и уменьшило фибрин-селективность	Низкая	ОИМ*, ИИ#
Ланотеплаза (Lanoteplase)	$T_{1/2}=20-25$ мин/ внутривенно болусно	Удалены домены F, G, что увеличило время полувыведения	Умеренная	ОИМ#, ИИ#, ТЭЛА#
Памитеплаза (Pamiteplase)	$T_{1/2}=30-45$ мин/ внутривенно болусно	Удален домен K1, что увеличило время полувыведения, улучшено связывание с фибрином	Умеренная	ОИМ#
Монтеплаза (Monteplase)	$T_{1/2}=35-45$ мин/ внутривенно болусно	527 аминокислот, 5 доменов. Изменения включают особенности трехмерной конфигурации вследствие замены цистеина на серин в положении 84 (C84S)	Низкая	ОИМ#

Примечание. * — разрешено клиническое применение; # — проводятся экспериментальные и/или клинические исследования. F — пальцевой домен, G — домен, гомологичный ростовому фактору, K1, K2 — подковообразные 1 и 2 и P — протеазный домен.

Таблица 3. Функциональные области (домены) молекулы ТАП

Домен	Локализация в аминокислотной последовательности	Функция
Пальцевой (F)	4—50	Связывание с фибрином [32]. Взаимодействие с рецепторами на мембранах липопротеинов [33] и аннексина II [34]
Гомологичный эпидермальному фактору роста (G)	51—87	Активация рецептора эпидермального фактора роста [35]
Подковообразный 1 (K1)	88—176	Функция до конца не ясна. Принимает участие в метаболизме t-PA в печени посредством контакта с рецепторами к маннозе [36]
Подковообразный 2 (K2)	177—256; Trp ²⁴² и Trp ²⁵³ — активная область для связывания лизиновых окончаний	Связывание/активация плазминогена, PDGF-CC [37], рецепторов NMDA [38]
Протеазный (P)	276—527	Протеолитическая активность [31, 39]

но значимыми областями — доменами (**см. табл. 2, 3**) [31—39]. При ограниченном протеолизе связи Arg275—Pе276 (аргинин—изолейцин) образуется двухцепочечная молекула с 4 доменами на α -цепи и одним доменом на β -цепи [40]. В присутствии фибрина вследствие эффекта аллостерической регуляции обе молекулы имеют одинаковую активность [41].

В организме ТАП фоново секретруется клетками сосудистого эндотелия, обеспечивая атромбогенность сосудистой стенки. При развитии тромбоза первоначальное взаимодействие ТАП с фибрином происходит при активации F-домена с последующим участием K2-домена, с которым связываются вновь образуемые лизиновые окончания фибрина (**см. табл. 3**). В результате плазмин из плазминогена в основ-

ном образуется на поверхности фибрина, что обуславливает его фибрин-селективность, преимущественное локальное тромболитическое действие и незначительное системное влияние на гемостаз [42, 43].

Наряду с эндотелием ТАП вырабатывается в других органах и тканях, что обуславливает его системное действие. ТАП выполняет сигнальные, регуляторные и иные функции, влияя на пластичность, процессы роста и ветвления нейронов и глиальных клеток и на локальный кровоток. В головном мозге его вырабатывают нейроны, макро- и микроглия и основным местом действия являются синапсы, в первую очередь гиппокампа и миндалина. ТАП взаимодействует с рецепторами к липопротеинам низкой плотности [33], к эпидермальному фактору роста [35], к фактору роста из тромбоцитов (PDGF) [37], тем са-

мым участвуя в миграции клеток, ремоделировании тканей. Взаимодействие ТАП с NMDA-рецепторами, в частности с субъединицей N1, влияет на пластичность, в том числе на долгосрочное потенцирование и, следовательно, память, пространственную ориентацию и эмоциональное восприятие [38]. ТАП повышает проницаемость ГЭБ, усиливает экспрессию E-и P-селектинов и ICAM-1 с последующей миграцией лейкоцитов и воспалением в этой области [44, 45]. При повреждении аксонов он способствует их регенерации посредством протеолиза отложений фибрина [46]. С возрастом протеолитическая активность ТАП снижается, уменьшается его содержание в различных областях головного мозга, что может способствовать ухудшению пространственной ориентации, снижению памяти и другим расстройствам [47]. Возрастающее внимание в последние годы уделяется участию ТАП в регуляции локального кровотока с обеспечением физиологической адаптации кровотока под функциональное состояние и потребности определенных областей головного мозга [48].

По данным ряда экспериментальных исследований, высокие концентрации экзогенного ТАП, которые, в частности, отмечаются при ТЛТ, могут способствовать активации NMDA-рецепторов и эксайтотоксическому повреждению нейронов [49]. Эти данные подтверждаются тем, что блокирование моноклональными антителами взаимодействия ТАП с NMDA-рецепторами уменьшает объем ишемического повреждения и продлевает терапевтическое окно [50].

Клиническое применение ТАП

Впервые клиническая эффективность рекомбинантного ТАП — альтеплазы — была показана при ОИМ [51]. В 1993 г. Т. Yamaguchi и соавт. [52] продемонстрировали его эффективность в первые 6 ч ИИ полушарной локализации. В 1995 г. были опубликованы результаты многоцентровых исследований альтеплазы при ИИ в США и в Европе [11, 12]. К настоящему времени эффективность системного введения альтеплазы в первые 4,5 ч ИИ в дозах 0,6—0,9 мг/кг подтверждена международными клиническими исследованиями и отражена в национальных рекомендациях [53, 54]. Результаты метаанализа многоцентровых рандомизированных исследований показывают, что назначение ТАП в первые 6 ч, и особенно в первые 3 ч, ИИ достоверно уменьшает число больных с неудовлетворительным функциональным восстановлением или с летальным исходом [2].

Несмотря на высокую тромболитическую активность и эффективность в восстановлении кровотока и улучшении функционального исхода, необходимость длительного капельного внутривенного введения, особенно в условиях ограниченного времени [55], а также возможность нейротоксического эффекта обуславливают интерес к разработке новых тромболитических препаратов на основе ТАП (см. табл. 2).

Тенектеплаза

Тенектеплаза относится к тромболитикам III поколения и является модифицированным вариантом ТАП, в котором с целью увеличения времени полувыведения, возможности болюсного введения, повышения сродства к фибрину и большей устойчивости к ингибитору ТАП I-го типа в трех областях молекулы сделаны аминокислотные замены¹.

К настоящему времени по результатам клинических исследований Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения и социальных служб США (*англ.*: Food and Drug Administration — FDA) разрешило применение тенектеплазы при ОИМ (см. табл. 2) [56]. При ИИ наиболее крупное исследование тенектеплазы в сравнении с альтеплазой в первые 4,5 ч ИИ было завершено в 2016 г. (табл. 4) [57]. Его данные показали, что при нетяжелом ИИ тенектеплаза в дозе 0,4 мг/кг не уступает по эффективности и безопасности альтеплазе. Аналогичные результаты (см. табл. 4) были получены при назначении тенектеплазы, больным с более тяжелым инсультом [58]. Кроме того, в группе пациентов, получающих тенектеплазу, достоверно более часто отмечалось восстановление функциональной активности до 0—1 балла по модифицированной шкале Рэнкина (*англ.*: Modified Rankin scale — mRS) [58]. Изучение эффективности различных доз тенектеплазы при ИИ средней тяжести показало, что наиболее эффективной является доза 0,25 мг/кг (табл. 4) [59]. В этом же исследовании было установлено, что назначение тенектеплазы сопровождалось лучшей динамикой по шкале инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale — NIHSS) в первые сутки заболевания. В метаанализе [60] двух исследований более частая rekanализация артерии и лучшая динамика по шкале NIHSS в первые 24 ч, а также исход к 90-м суткам по mRS достоверно чаще наблюдались в группе с тенектеплазой (76 больных, 0,25 мг/кг) по сравнению с альтеплазой (71 больной). По данным В. Campbell и соавт. [61], применение тенектеплазы приводило к лучшему восстановлению перфузии по сравнению с альтеплазой. В то же время объединенный анализ нескольких исследований [62], в которых оценивалось восстановление КТ-перфузии, не выявил достоверных различий между группами с тенектеплазой (36 больных) и альтеплазой (37 больных).

Ретеплаза

Ретеплаза также относится к тромболитическим препаратам III поколения и является укороченным вариантом ТАП, в котором удалены домены F, G и

¹<https://patents.google.com/patent/US8916148>. Tissue plasminogen activator variant uses.

Таблица 4. Сравнительный анализ тенектеплазы и альтеплазы в первые 4,5 ч ИИ

Анализируемый показатель	NOR-TEST [57]			ATTEST [58]			M. Parsons и соавт. [59]			Метаанализ	
	тенектеплаза (n=549)	альтеплаза (n=551)	тенектеплаза (n=47)	альтеплаза (n=49)	тенектеплаза (n=25)	альтеплаза (n=25)	тенектеплаза (n=25)	альтеплаза (n=25)	тенектеплаза	альтеплаза	
Доза препарата, мг/кг	0,4	0,9	0,25	0,9	0,1	0,25	0,1	0,25	0,1—0,25—0,4	0,9	
Возраст, годы	70,8±14,4	71,2±13,2	71±13	71±12	72,1±6,9	68,0±9,4	70,7±13,2	70,8±8,4	70,7±13,2	71,2±12,7	
Женщины/мужчины	228/321	212/339	17/30	18/31	13/12	13/12	12/13	12/13	271/375	242/383	
Сумма баллов по шкале NIHSS при поступлении	5,6 (n=4)	5,8 (n=4)	12 (9—18)	11 (8—16)	14,5±2,3	14,6±2,3	14,0±2,3	14,0±2,3	—	—	
Время от начала симптомов до ТЛТ, мин	118	111	184±44	192±45	186±54	180±48	162±48	162±48	—	—	
0—1 балл по mRS к 90-м суткам	354 (64%)	345 (63%)	13 (28%)	10 (20%)	27 (54%)	10 (40%)	10 (40%)	10 (40%)	394 (60,9%)	365 (58,4%)	
2 балла по mRS к 90-м суткам	67 (12%)	87 (16%)	4 (8,5%)	11 (22,4%)	9 (34%)	1 (4%)	1 (4%)	1 (4%)	80 (12,4%)	99 (15,8%)	
BM-гемастома в первые 48 ч	47 (9%)	50 (9%)	8 (15%)	14 (27%)	3 (6%)	5 (20%)	5 (20%)	5 (20%)	58 (9,0%)	69 (11,0%)	
Симптомная BM-гемастома в первые 48 часов	15 (3%)	13 (2%)	3 (6%)	4 (8%)	2 (4%)	3 (12%)	3 (12%)	3 (12%)	20 (3,1%)	20 (3,2%)	
Улучшение по шкале NIHSS на 4 балла и более в 1-е сутки	229 (42%)	214 (39%)	19 (40%)	12 (24%)	32 (64%)*	9 (36%)	9 (36%)	9 (36%)	280 (43,3%)*	235 (37,6%)	
Летальный исход в первые 3 мес	29 (5%)	26 (5%)	8 (17%)	6 (12%)	4 (8%)	3 (12%)	3 (12%)	3 (12%)	41 (6,3%)	35 (5,6%)	

Примечание. * — достоверно чаще в группе пациентов, получающих терапию тенектеплазой, чем в группе альтеплазы (p=0,038; ОШ=1,28, 95% ДИ 1,01—1,61. BM — внутримозговая.

К1 (см. табл. 2). Это увеличивает время полувыведения и позволяет болюсное введение, но одновременно уменьшает сродство к фибриногену и фибринолитическую активность препарата. После окончания в 1995—1997 гг. сравнительных исследований с альтеплазой [63, 64] и стрептокиназой [65] препарат был разрешен FDA для лечения ОИМ. При ИИ выполнено одно сравнительное исследование [66], в котором была показана не меньшая эффективность ретеплазы по сравнению с альтеплазой в уменьшении неврологических симптомов по шкалам NIHSS, mRS и индексу Бартел к 30-м суткам у больных с инсультом средней тяжести (по NIHSS 13,7±6,2 балла).

Внешние (непрямые) активаторы плазминогена

Другой группой препаратов, применяемых для ТЛТ при ОИМ и ИИ, являются внешние активаторы плазминогена. Внешние активаторы плазминогена не являются структурной частью человеческого организма, изначально имеют узкую направленность действия (лизис или прерывание свертыванию крови) и поэтому практически не участвуют в сигнальных, регуляторных и иных реакциях в организме человека. В то же время, будучи чужеродными белками, они иммуногенны, и преодоление иммуногенности при одновременном сохранении фибринолитической активности является одной из основных задач при внедрении их в клиническую практику. Фибринолитический эффект установлен у ряда растений, микроорганизмов и других представителей животного и растительного мира [67], однако в клинической практике применяются лишь единичные из них, в частности стрептокиназа, стафилокиназа и десмотеплаза.

Стрептокиназа

Первыми гемолитический эффект стрептококка отметили W. Tillett и R. Garner [68] в 1933 г. В последующем был выделен наиболее гемолитически активный штамм — Н46А [69]. Клонирование гена [70] позволило создавать рекомбинантные варианты стрептокиназы.

Стрептокиназа активирует плазминоген посредством образования комплекса стрептокиназа—плазминоген, что сопровождается конформационным изменением последнего и его активацией [71]. Стрептокиназа — один из первых препаратов, который начал применяться для ТЛТ при ОИМ и тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) [3, 72, 73] и показал высокую эффективность в восстановлении кровотока. Одновременно наряду с хорошим тромболитическим эффектом было отмечено выраженное системное влияние на гемостаз. При ИИ выполнено три многоцентровых исследования [74—76]. В каждом из них, включая метаанализ [77], было показано, что назначение стрептокиназы в дозе 1,5 млн ЕД, несмотря на тенденцию к улучшению функционального исхода по индексу Бартел и шкале mRS к 180-м суткам,

Таблица 5. Метаанализ применения стрептокиназы при ИИ [78]

Анализируемый показатель	Стрептокиназа+ (n=653)	Стрептокиназа– (n=639)
Время до начала лечения, ч	3,8±1,1	3,8±1,1
Возраст, годы	69,3±11,5	68,5±12,4
Женщины/мужчины	287/366	277/362
Систолическое АД, мм рт.ст.	155±22	155±25
Диастолическое АД, мм рт.ст.	88±12	88±13
Сопутствующий прием аспирина	330	331
Мерцательная аритмия	174	162
Оглушение/сопор	139	128
Изменения на КТ при поступлении	180	169
Смерть/выраженная ивалидизация в течение 6 мес	436	433
Смерть в первые 10 сут	176*	89
Смерть в первые 3 мес	239*	160
ВМ	251*	135

Примечания. * — достоверно чаще, чем в группе сравнения ($p < 0,001$).

достоверно увеличивало частоту неблагоприятного исхода на 10-е и 90-е сутки и частоту внутрочерепных кровоизлияний, в том числе с летальным исходом (табл. 5). Результаты этих исследований в сочетании с иммуногенностью стрептокиназы, выраженным системным действием на гемостаз и отсутствием фибрин-селективности явились причинами, ограничивающими ее широкое применение. В последние десятилетия проводятся исследования с целью уменьшения иммуногенного действия стрептокиназы и системного влияния на гемостаз, однако основным препятствием является частичное перекрытие областей на ее молекуле, регулирующих тромболитическую активность, иммуногенность и стабильность [78].

Стафилокиназа

Активирующее действие стафилокиназы на плазминоген было установлено С. Lack [79]. В 80-е годы после клонирования гена [80] была создана рекомбинантная стафилокиназа [81]. В последующем проводилось ее усовершенствование с целью уменьшения иммуногенности и увеличения времени полувыведения [82–84]. В Российской Федерации была создана рекомбинантная неиммуногенная стафилокиназа (фортеплаза, патент RU 2448158 С1, 20.04.12). В отличие от нативной стафилокиназы в неиммуногенной стафилокиназе заменены 3 аминокислоты в иммунодоминантном эпитопе, что практически нивелировало иммуногенность и одновременно увеличило в 1,7 раза скорость образования комплекса плазминоген—неиммуногенная стафилокиназа по сравнению с исходным комплексом плазминоген—нативная стафилокиназа [85].

Стафилокиназа относится к группе высокофибрин-селективных тромболитиков III поколения. Молекула стафилокиназы образует с плазминогеном стехиометрический комплекс в соотношении 1:1, который активируется следовыми количествами плазмина [86]. Основной механизм высокой фи-

брин-селективности стафилокиназы заключается в том, что она реагирует только с γ -плазминогеном, т.е. с находящимся в тромбе, и не связывается с α - и β -плазминогеном [87]. Дополнительный механизм фибрин-селективности обусловлен различием скоростей нейтрализации комплекса плазмин—стафилокиназа α_2 -антиплазмином в плазме и на поверхности тромба. В плазме этот процесс протекает гораздо быстрее (до 100 раз), чем на поверхности тромба. Кроме того, после растворения фибринового сгустка комплекс стафилокиназа—плазмин под влиянием α_2 -антиплазмина быстро диссоциирует на стафилокиназу и плазмин и поэтому не имеет системного действия на гемостаз и содержание фибриногена [88].

Выполненное в 1995 г. в Бельгии сравнительное многоцентровое исследование рекомбинантной стафилокиназы при ОИМ показало ее тромболитический эффект, не уступающий альтеплазе, при выраженном фибринсохраняющем действии, отсутствии избыточного потребления α_2 -антиплазмина и системной активации плазминогена [89]. Уровень фибриногена, α_2 -антиплазмина и плазминогена через 90 мин после введения стафилокиназы не изменился и достоверно ($p < 0,0005$) отличался от аналогичных показателей в группе с альтеплазой. Не отмечалось также аллергических реакций, несмотря на то что со 2-й недели повысился уровень антител к стафилокиназе. Последующая модификация рекомбинантной стафилокиназы позволила значительно уменьшить антигенный эффект и одновременно сохранить высокую тромболитическую активность и фибрин-селективность [82].

Особый интерес представляет завершившееся в Российской Федерации в 2016 г. многоцентровое сравнительное исследование рекомбинантной неиммуногенной стафилокиназы (фортеплазы) и тенектеплазы при ОИМ [90], по итогам которого было показано, что неиммуногенная стафилокиназа облада-

Таблица 6. Результаты сравнительного исследования рекомбинантной неиммуногенной стафилокиназы и тенектеплазы при ОИМ [91]

Показатель	Рекомбинантная неиммуногенная стафилокиназа (n=191)	Тенектеплаза (n=191)
Женщины/Мужчины	46/145	33/158
Возраст, годы	58,9±9,9	60,0±11,3
Дозировка/способ введения	15 мг/болюсно	30—50 мг с учетом массы тела/болюсно
Контроль восстановления коронарного кровотока (по данным коронароангиографии)	182	179
Время «боль—ТЛТ», мин	206±105	204±90
Антикоагулянтная терапия	100%	100%
Антиагрегантная терапия	100%	100%
Чрескожное коронарное вмешательство	100%	100%
Реперфузия по данным ЭКГ	80%	80,1%
Реперфузия по данным КАГ	70%	70,8%
Первичная конечная комбинированная точка (летальный исход+инфаркт миокарда+кардиогенный шок)	12,63%	12,56%
Большие кровотечения (переливание крови необходимо)	1	1
Малые кровотечения (переливание крови не требуется)	3,7%* (7 больных)	10,5% (20 больных)
Внутричерепные кровоизлияния	—	—

Примечание. * — достоверно реже, чем в группе с тенектеплазой ($p=0,017$; ОШ=0,35, 95% ДИ 0,15—0,81).

Таблица 7. Критерии включения и конечные точки в сравнительном исследовании рекомбинантной неиммуногенной стафилокиназы и альтеплазы при ИИ [93, 94]

Анализируемый параметр	Рекомбинантная неиммуногенная стафилокиназа (n=168)	Альтеплаза (n=168)
Возраст, годы	18—80	
Время после развития заболевания, ч	До 4,5	
Шкала NIHSS (включительно), баллы	5—24	
Дозировка/способ введения	10 мг/болюсно в течение 10 с	0,9 мг/кг/согласно инструкции
Первичная конечная точка	Сумма баллов по mRS 0—1 на 90-е сутки	
Вторичная комбинированная конечная точка	mRS (0—1) + NIHSS (0—1 балл) + индекс Бартел (95 баллов и выше)	
Дополнительный критерий эффективности	Баллы по NIHSS через 24 ч и через 90 сут	
Конечные точки безопасности	Общая смертность на 90-е сутки. Геморрагическая трансформация (все случаи). Симптомная геморрагическая трансформация (увеличение значения по NIHSS на 4 балла и более или смертельный исход). Количество СНЯ и НЯ по органам и системам	

Примечание. СНЯ — серьезные нежелательные явления; НЯ — нежелательные явления.

ет не меньшей эффективностью, чем тенектеплаза, в восстановлении коронарного кровотока (табл. 6). Кроме того, была подтверждена высокая фибрин-селективность препарата, что нашло отражение в достоверно меньшей частоте малых, не требовавших переливания крови, кровотечений при одинаковой частоте больших кровотечений (см. табл. 6).

При ИИ было проведено несколько экспериментальных сравнительных исследований стафилокиназы и альтеплазы, которые показали не меньшую эффективность стафилокиназы в уменьшении очага ишемического повреждения при достоверно более выраженном фибринсохраняющем эффекте [91]. В настоящее время в Российской Федерации проводится многоцентровое исследование эффективности

рекомбинантной неиммуногенной стафилокиназы и альтеплазы в первые 4,5 ч ИИ с критериями включения, совпадающими с показаниями для назначения альтеплазы при ИИ^{2,3} (табл. 7).

Десмотеплаза

Фибринолитический эффект слюны летучей мыши *D. Rotundus* был выявлен в 1932 г. [92]. В последующем было установлено, что вещество, содержащееся в слюне — десмотеплаза (десмокиназа), является активатором плазминогена [93]. Десмотеплаза

²www.rosminzdarv.ru/documents

³https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02301910

имеет более высокое сродство к фибрину и более эффективно лизирует сгустки крови, чем стрептокиназа или урокиназа [94]. Из 4 вариантов молекулы десмотеплазы наиболее активной является DSPA α 1 [95], которая структурно близка к ТАП, отличаясь лишь отсутствием домена K1.

Особенностью DSPA α 1 является очень низкая фоновая способность активировать плазминоген, которая более чем в 100 тыс. раз усиливается при контакте с фибрином. Фибрин-селективность DSPA α 1 в 180 раз превосходит фибрин-селективность ТАП. Другой особенностью DSPA α 1 является продолжительное время полувыведения (до 150 мин), что позволяет однократное болюсное введение всей дозы. В экспериментальных исследованиях была показана бóльшая эффективность DSPA α 1 по сравнению с ТАП в растворении тромбов, в том числе в венечных артериях, при одновременном отсутствии системного действия на гемостаз и уровень фибриногена [96].

Было выполнено 6 многоцентровых плацебо-контролируемых исследований [97–102], в которых изучалась эффективность десмотеплазы в дозах 70–125 мг/кг через 3–9 ч после развития ИИ. В целом, несмотря на гетерогенность включенных больных, при метаанализе было показано, что назначение десмотеплазы сопровождалось лучшим восстановлением кровотока, чем в группе плацебо, но не улучшало

функциональный исход [103]. Отсутствие клинического эффекта может быть связано с отсутствием пениумбры позднее 4,5–6,0 ч, вследствие чего улучшение кровотока не сопровождается восстановлением неврологических функций. Важным аспектом действия десмотеплазы было отсутствие различий в частоте внутричерепных и ВМ кровоизлияний с группой плацебо, что позволяет сделать заключение об избирательном действии на гемостаз и высокой фибрин-селективности препарата.

Заключение

Несмотря на более чем полувековой процесс изучения тромболитических препаратов, в клинической практике применяется лишь несколько из них. Это обуславливает важность дальнейшей разработки и внедрения в практическую деятельность новых тромболитических препаратов с высокой фибрин-селективностью, отсутствующим/минимальным системным действием на гемостаз, повышенной устойчивостью к ингибиторам активатора плазминогена, продолжительным временем полувыведения и болюсным введением.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Feigin VL, Norrving B, Mensah GA. Global Burden of Stroke. *Circ Res*. 2017;120(3):439–448. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308413>
2. Wardlaw JM, Murray V, Berge E, del Zoppo GJ. Thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;7:CD000213. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000213.pub3>
3. Sherry S, Fletcher A, Alkjaersig N, Smyrniotis F. An approach to intravascular fibrinolysis in man. *Trans Assoc Am Physicians*. 1957;70:288–296.
4. Чазов Е.И., Андреев Г.В. Первый опыт терапии тромбоза отечественным фибринолизин. *Кардиология*. 1962;4:59–64. [Chazov EI, Andreenko GV. Pervyi opyt terapii tromboza otechestvennym fibrinolizinom. *Kardiologiya*. 1962;4:59–64. (In Russ.)].
5. Sussman BJ, Fitch TS. Thrombolysis with fibrinolysin in cerebral arterial occlusion. *JAMA*. 1958;167:1705–1709.
6. Бурд Г.С., Боголепов Н.К. *Применение фибринолизина при ишемическом инсульте. Нарушения мозгового кровообращения*. Выпуск 1. Под ред. Боголепова Н.К. М.: 2 МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова; 1968. [Burd GS, Bogolepov NK. *Primenenie fibrinolizina pri ishemicheskom insulte. Narusheniya mozgovogo krovoobratsheniya*. Vypusk 1. Pod red. Bogolepova N.K. M.: 2 MOLGMI im. N.I. Pirogova; 1968. (In Russ.)].
7. Шефер Д.Г., Хорьяков Г.И. *Первый опыт применения фибринолизина в условиях скорой помощи*. М.: Всесоюзный симпозиум «Предупреждение и лечение мозговых инсультов»; 1965. [Shefer DG, Hor'yakov GI. *Pervyi opyt primeneniya fibrinolizina v usloviyah skoroi pomoshchi*. M.: Vsesoyuznyi simpozium «Preduprezhdenie i lechenie mozgovykh insultov»; 1965. (In Russ.)].
8. Хорьяков Г.И. *Фибринолизин в комплексном лечении мозгового ишемического инсульта в условиях специализированной скорой помощи*. Дис. ... канд. мед. наук. Пермь: Пермский государственный медицинский институт; 1971. [Hor'yakov GI. *Fibrinolizin v kompleksnom lechenii mozgovogo ishemicheskogo insulta v usloviyah spetsializirovannoi skoroi pomoshchi*. Dis. ... kand. med. nauk. Perm': Permskii gosudarstvenni meditsinski institute; 1971. (In Russ.)].
9. Шмырев В.И. *Фибринолизин-антикоагулянтная терапия церебральных тромбозов*. Дис. ... канд. мед. наук. М.: НИИ неврологии АМН СССР; 1969. [Shmyrev VI. *Fibrinolizino-antikoagulyantnaya terapiya tserebral'nyh trombozov*. Dis. ... kand. med. nauk. M.: NII nevrologii AMN SSSR; 1969. (In Russ.)].
10. Шмырев В.И., Лунев Д.К. Фибринолизин-антикоагулянтная терапия церебральных тромбозов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 1972;8:1121–1128. [Shmyrev VI, Lunev DK. Fibrinolizino-antikoagulyantnaya terapiya tserebral'nyh trombozov. *Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii im. S.S. Korsakova*. 1972;8:1121–1128. (In Russ.)].
11. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 1995;333:1581–1587. <https://doi.org/10.1056/NEJM199512143332401>
12. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, Toni D, Lesaffre E, von Kummer R, Boysen G, Bluhmki E, Höxter G, Mahagne M-H, Hennerici M. Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke. The European Cooperative Acute Stroke Study (ECASS). *JAMA*. 1995;274(13):1017–1025. <https://doi.org/10.1001/jama.1995.03530130023023>
13. Singer OC, Hamann GF, Misselwitz B, Steinmetz H, Foerch C; Arbeitsgruppe Schlaganfall Hessen. Time trends in systemic thrombolysis in a large hospital-based stroke registry. *Cerebrovasc Dis*. 2012;33(4):316–321. <https://doi.org/10.1159/000335816>
14. Scherf S, Limburg M, Wimmers R, Middelkoop I, Lingsma H. Increase in national intravenous thrombolysis rates for ischaemic stroke between 2005 and 2012: is bigger better? *BMC Neurol*. 2016;16:53. <https://doi.org/10.1186/s12883-016-0574-7>
15. Ebinger M, Winter B, Wendt M, Weber JE, Waldschmidt C, Rozanski M, Kunz A, Koch P, Kellner PA, Gierhake D, Villringer K, Fiebich JB, Grittner U, Hartmann A, Mackert BM, Endres M, Audebert HJ; STEMO Consortium. Effect of the use of ambulance-based thrombolysis on time to thrombolysis in acute ischemic stroke: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2014;311(16):1622–1631. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.2850>

16. Ford GA, Ahmed N, Azevedo E, Grond M, Larrue V, Lindsberg PJ, Toni D, Wahlgren N. Intravenous alteplase for stroke in those older than 80 years old. *Stroke*. 2010;41(11):2568-2574. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.581884>
17. Скворцова В.И., Шетова И.М., Какорина Е.П., Камкин Е.Г., Бойко Е.Л., Алексан Б.Г. Иванова Г.Е., Шамалов Н.А., Дашьян В.Г., Крылов В.В. Результаты реализации «Комплекса мероприятий по совершенствованию медицинской помощи пациентам с острыми нарушениями мозгового кровообращения» в Российской Федерации. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018;118(4):5-12. [Skvortsova VI, Shetova IM, Kakorina EP, Kamkin EG, Boyko EL, Alekyan BG, Ivanova GE, Shamalov NA, Dash'yan VG, Krylov VV. Rezultaty realizatsii «Kompleksa meropriyatii po sovershenstvovaniyu meditsinskoi pomotshi patsientam s ostrymi narusheniyami mozgovogo krovoobratsheniya» v Rossi'skoi Federatsii. *Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii im. S.S. Korsakova*. 2018;118(4):5-12. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/jnevro2018118415-12>
18. Robbins KC, Summaria L, Hsieh V, Shah RJ. The peptide chains of human plasmin. Mechanism of activation of human plasminogen to plasmin. *J Biol Chem*. 1967;242(10):2333-2342.
19. Hoylaerts M, Rijken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of plasminogen activation by tissue plasminogen activator. Role of fibrin. *Thromb Haemost*. 1981;46(01):162. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1652446>
20. Ramakrishnan V, Patthy L, Mangel WF. Conformation of Lys-plasminogen and the kringle 1-3 fragment of plasminogen analyzed by small-angle neutron scattering. *Biochemistry*. 1991;30(16):3963-3969. <https://doi.org/10.1021/bi00230a023>
21. Ponting CP, Marshall JM, Cederholm-Williams SA. Plasminogen: a structural review. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1992;3(5):605-614. <https://doi.org/10.1097/00001721-199210000-00012>
22. Marshall JM, Brown AJ, Ponting CP. Conformational studies of human plasminogen and plasminogen fragments: evidence for a novel third conformation of plasminogen. *Biochemistry*. 1994;33(12):3599-3606. <https://doi.org/10.1021/bi00178a017>
23. Xue Y, Bodin C, Olsson K. Crystal structure of the native plasminogen reveals an activation-resistant compact conformation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2012;10:1385-1396. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2012.04765.x>
24. Mangel WF, Lin BH, Ramakrishnan V. Characterization of an extremely large, ligand-induced conformational change in plasminogen. *Science*. 1990;248(4951):69-73. <https://doi.org/10.1126/science.2108500>
25. Gong Y, Kim SO, Felez J, Grella DK, Castellino FJ, Miles LA. Conversion of Glu-plasminogen to Lys-plasminogen is necessary for optimal stimulation of plasminogen activation on the endothelial cell surface. *J Biol Chem*. 2001;276(22):19078-19083. <https://doi.org/10.1074/jbc.m101387200>
26. Castellino FJ, Ploplis VA. Structure and function of the plasminogen/plasmin system. *Thromb Haemost*. 2005;93(4):647-654. <https://doi.org/10.1160/TH04-12-0842>
27. Rijken DC, Sakharov DV. Basic principles in thrombolysis: regulatory role of plasminogen. *Thromb Res*. 2001;103(suppl 1):41-49. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(01\)00296-1](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(01)00296-1)
28. Astrup T, Permin PM. Fibrinolysis in the animal organism. *Nature*. 1947;159(4046):6891-682. <https://doi.org/10.1038/159681b0>
29. Astrup T, Stage A. Isolation of a soluble fibrinolytic activator from animal tissue. *Nature*. 1952;170(4335):929. <https://doi.org/10.1038/170929a0>
30. Rijken DC, Wijngaards G, Zaal-de Jong M, Welbergen J. Purification and partial characterization of plasminogen activator from human uterine tissue. *Biochim Biophys Acta*. 1979;580:140-153. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(79\)90205-8](https://doi.org/10.1016/0005-2795(79)90205-8)
31. Pennica D, Holmes WE, Kohr WJ, Harkins RN, Vehar GA, Ward CA, Bennett WF, Yelverton E, Seeburg PH, Heyneker HL, Goeddel DV, Collen D. Cloning and expression of human tissue-type plasminogen activator cDNA in *E. coli*. *Nature*. 1983;301(5897):214-221. <https://doi.org/10.1038/301214a0>
32. Kagitani H, Tagawa M, Hatanaka K, Ikari T, Saito A, Bando H, Okada K, Matsuo O. Expression in *E. coli* of finger-domain lacking tissue-type plasminogen activator with high fibrin affinity. *FEBS Lett*. 1985;189(1):145-149. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(85\)80860-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(85)80860-7)
33. Bu G, Williams S, Strickland DK, Schwartz AL. Low density lipoprotein receptor-related protein/alpha 2-macroglobulin receptor is an hepatic receptor for tissue-type plasminogen activator. *PNAS*. 1992;89(16):7427-7431. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.16.7427>
34. Hajjar KA, Jacovina AT, Chacko J. An endothelial cell receptor for plasminogen/tissue plasminogen activator. I. Identity with annexin II. *J Biol Chem*. 1994;269(33):21191-21197.
35. Correa F, Gauberti M, Parcq J, Macrez R, Hommet Y, Obiang P, Hernangomez M, Montagne A, Liot G, Guaza C, Maubert E, Ali C, Vivien D, Docagne F. Tissue plasminogen activator prevents white matter damage following stroke. *J Exp Med*. 2011;208(6):1229-1242. <https://doi.org/10.1084/jem.20101880>
36. Kuiper J, Otter M, Rijken DC, van Berkel TJ. Characterization of the interaction in vivo of tissue-type plasminogen activator with liver cells. *J Biol Chem*. 1988;263(34):18220-18224.
37. Fredriksson L, Li H, Fieber C, Li X, Eriksson U. Tissue plasminogen activator is a potent activator of PDGF-CC. *EMBO J*. 2004;23(19):3793-3802. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600397>
38. Lopez-Atalaya JP, Roussel BD, Levrat D, Parcq J, Nicole O, Hommet Y, Benchenane K, Castel H, Leprince J, To Van D, Bureau R, Rault S, Vaudry H, Petersen KU, Santos JS, Ali C, Vivien D. Toward safer thrombolytic agents in stroke: molecular requirements for NMDA receptor-mediated neurotoxicity. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2008;28(6):1212-1221. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2008.14>
39. Rathore YS, Rehan M, Pandey K, Sahni G. First structural model of full-length human tissue-plasminogen activator: a SAXS data-based modeling study. *J Phys Chem B*. 2012;116(1):496-502. <https://doi.org/10.1021/jp207243n>
40. Rijken DC, Collen D. Purification and characterization of the plasminogen activator secreted by human melanoma cells in culture. *J Biol Chem*. 1981;256(13):7035-7041.
41. Rijken DC, Hoylaerts M, Collen D. Fibrinolytic properties of one-chain and two-chain human extrinsic (tissue-type) plasminogen activator. *J Biol Chem*. 1982;257(6):2920-2925.
42. Sakharov DV, Nagelkerke JF, Rijken DC. Rearrangements of the fibrin network and spatial distribution of fibrinolytic components during plasma clot lysis. Study with confocal microscopy. *J Biol Chem*. 1996;271(4):2133-2138. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.4.2133>
43. Collet JP, Park D, Lesty C, Soria J, Soria C, Montalescot G, Weisel JW. Influence of fibrin network conformation and fibrin fiber diameter on fibrinolysis speed. Dynamic and structural approaches by confocal microscopy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1354-1361. <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.5.1354>
44. Freeman R, Niego B, Croucher DR, Pedersen LO, Medcalf RL. t-PA, but not desmoteplase, induces plasmin-dependent opening of a blood-brain barrier model under normoxic and ischaemic conditions. *Brain Res*. 2014;1565:63-73. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.03.027>
45. Suzuki Y, Nagai N, Umemura K. A review of the mechanisms of blood-brain barrier permeability by tissue-type plasminogen activator treatment for cerebral ischemia. *Front Cell Neurosci*. 2016;10:2. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00002>
46. Bukhari N, Torres L, Robinson JK, Tsirka SE. Axonal regrowth after spinal cord injury via chondroitinase and the tissue plasminogen activator (tPA)/plasmin system. *J Neurosci*. 2011;31(42):14931-14943. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3339-11.2011>
47. Obiang P, Maubert E, Bardou I, Nicole O, Launay S, Bezin L, Vivien D, Agin V. Enriched housing reverses age-associated impairment of cognitive functions and tPA-dependent maturation of BDNF. *Neurobiol Learn Mem*. 2011;96(2):121-129. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2011.03.004>
48. Park L, Gallo EF, Anrather J, Wang G, Norris EH, Paul J, Strickland S, Iadecola C. Key role of tissue plasminogen activator in neurovascular coupling. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(3):1073-1078. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708823105>
49. Baron A, Montagne A, Cassé F, Launay S, Maubert E, Ali C, Vivien D. NR2D-containing NMDA receptors mediate tissue plasminogen activator-promoted neuronal excitotoxicity. *Cell Death Differ*. 2010;17:860-871. <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.172>
50. Macrez R, Obiang P, Gauberti M, Roussel B, Baron A, Parcq J, Cassé F, Hommet Y, Orset C, Agin V, Bezin L, Berrocoso TG, Petersen KU, Montaner J, Maubert E, Vivien D, Ali C. Antibodies preventing the interaction of tissue-type plasminogen activator with N-methyl-D-aspartate receptors reduce stroke damages and extend the therapeutic window of thrombolysis. *Stroke*. 2011;42(8):2315-2322. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.606293>
51. Chesebro JH, Knatterud G, Roberts R, Borer J, Cohen LS, Dalen J, Dodge HT, Francis CK, Hillis D, Ludbrook P. Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Trial, Phase I: A comparison between intravenous tissue plasminogen activator and intravenous streptokinase. Clinical findings through hospital discharge. *Circulation*. 1987;76(1):142-154. <https://doi.org/10.1161/01.cir.76.1.142>
52. Yamaguchi T, Hayakawa T, Kiuchi H. Intravenous tissue plasminogen activator ameliorates the outcome of hyperacute embolic stroke. *Cerebrovasc Dis*. 1993;3(4):269-272. <https://doi.org/10.1159/000108714>

53. Powers WJ, Derdeyn CP, Biller J, Coffey CS, Hoh BL, Jauch EC, Johnston KC, Johnston SC, Khalessi AA, Kidwell CS, Meschia JF, Ovbiagele B, Yavagal DR; American Heart Association Stroke Council. 2015 American Heart Association/American Stroke Association focused update of the 2013 guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke regarding endovascular treatment: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2015;46(10):3020-3035. <https://doi.org/10.1161/STR.0000000000000074>
54. Minematsu K, Toyoda K, Hirano T, Kimura K, Kondo R, Mori E, Nakagawara J, Sakai N, Shiohara Y, Tanahashi N, Yasaka M, Katayama Y, Miyamoto S, Ogawa A, Sasaki M, Suga S, Yamaguchi T; Japan Stroke Society. Guidelines for the intravenous application of recombinant tissue-type plasminogen activator (alteplase), the second edition, October 2012: a guideline from the Japan Stroke Society. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2013;22(5):571-600. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.04.001>
55. Meretoja A, Keshtkaran M, Saver JL, Tatlisumak T, Parsons MW, Kaste M, Davis SM, Donnan GA, Churilov L. Stroke thrombolysis: save a minute, save a day. *Stroke*. 2014;45(4):1053-1058. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.002910>
56. Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic (ASSENT-2) Investigators, Van De Werf F, Adgey J, Ardissino D, Armstrong PW, Aylward P, Barbash G, Betriu A, Binbrek AS, Califf R, Diaz R, Fanebust R, Fox K, Granger C, Heikklä J, Husted S, Jansky P, Langer A, Lupi E, Maseri A, Meyer J, Mlczoch J, Moccetti D, Myburgh D, Oto A, Paolasso E, Pehrsson K, Seabra-Gomes R, Soares-Piegas L, Sügrue D, Tendera M, Topol E, Toutouzas P, Vahanian A, Verheugt F, Wallentin L, White H. Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet*. 1999;354(9180):716-722. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)07403-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)07403-6)
57. Logallo N, Novotny V, Assmus J, Kvistad CE, Altheid L, Rønning OM, Thomassen B, Amthor KF, Ihle-Hansen H, Kurz M, Tobro H, Kaur K, Stankiewicz M, Carlsson M, Morsund Å, Idicula T, Aamodt AH, Lund C, Næss H, Waje-Andreassen U, Thomassen L. Tenecteplase versus alteplase for management of acute ischaemic stroke (NOR-TEST): a phase 3, randomised, open-label, blinded endpoint trial. *Lancet Neurol*. 2017;16(10):781-788. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30253-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30253-3)
58. Huang X, Cheripelli BK, Lloyd SM, Kalladka D, Moreton FC, Siddiqui A, Ford I, Muir KW. Alteplase versus tenecteplase for thrombolysis after ischaemic stroke (ATTEST): a phase 2, randomised, open-label, blinded endpoint study. *Lancet Neurol*. 2015;14(4):368-376. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70017-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70017-7)
59. Parsons M, Spratt N, Bivard A, Campbell B, Chung K, Miteff F, O'Brien B, Bladin C, McElduff P, Allen C, Bateman G, Donnan G, Davis S, Levi C. A randomized trial of tenecteplase versus alteplase for acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2012;366(12):1099-1107. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1109842>
60. Bivard A, Huang X, Levi CR, Spratt N, Campbell BCV, Cheripelli BK, Kalladka D, Moreton FC, Ford I, Bladin CF, Davis SM, Donnan GA, Muir KW, Parsons MW. Tenecteplase in ischemic stroke offers improved recanalization: Analysis of 2 trials. *Neurology*. 2017;89(1):62-67. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004062>
61. Campbell BCV, Mitchell PJ, Churilov L, Yassi N, Kleinig TJ, Dowling RJ, Yan B, Bush SJ, Dewey HM, Thijs V, Scroop R, Simpson M, Brooks M, Asadi H, Wu TY, Shah DG, Wijeratne T, Ang T, Miteff F, Levi CR, Rodrigues E, Zhao H, Salvaris P, Garcia-Esperon C, Bailey P, Rice H, de Villiers L, Brown H, Redmond K, Leggett D, Fink JN, Collicutt W, Wong AA, Muller C, Coulthard A, Mitchell K, Clouston J, Mahady K, Field D, Ma H, Phan TG, Chong W, Chandra RV, Slater LA, Krause M, Harrington TJ, Faulder KC, Steinfors BS, Bladin CF, Sharma G, Desmond PM, Parsons MW, Donnan GA, Davis SM; EXTEND-IA TNK Investigators. Tenecteplase versus Alteplase before thrombectomy for ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2018;378(17):1573-1582. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1716405>
62. Huang X, Kalladka D, Cheripelli BK, Moreton FC, Muir KW. The impact of CT perfusion threshold on predicted viable and nonviable tissue volumes in acute ischemic stroke. *J Neuroimaging*. 2017;27(6):602-606. <https://doi.org/10.1111/jon.12442>
63. Bode C, Smalling RW, Berg G, Burnett C, Lorch G, Kalbfleisch JM, Chernoff R, Christie LG, Feldman RL, Seals AA. Randomized comparison of coronary thrombolysis achieved with double-bolus reteplase (recombinant plasminogen activator) and front-loaded, accelerated alteplase (recombinant tissue plasminogen activator) in patients with acute myocardial infarction. The RAPID II Investigators. *Circulation*. 1996;94(5):891-898. <https://doi.org/10.1161/01>
64. The Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries (GUSTO III) Investigators. A comparison of reteplase with alteplase for acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1997;337(16):1118-1123. <https://doi.org/10.1056/NEJM199710163371603>
65. International Joint Efficacy Comparison of Thrombolytics. Randomised, double-blind comparison of reteplase double-bolus administration with streptokinase in acute myocardial infarction (INJECT): trial to investigate equivalence. *Lancet*. 1995;346(8971):329-336. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)92224-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(95)92224-5)
66. Lin ZJ, Qiu HY, Tong XX, Guo Y, Han MF, Yang CS, Lin KH, Wu J, Li X, Yang Y. Evaluation of efficacy and safety of Reteplase and Alteplase in the treatment of hyper-acute cerebral infarction. *Biosci Rep*. 2018;38:1. <https://doi.org/10.1042/BSR20170730>
67. Kotb E. The biotechnological potential of fibrinolytic enzymes in the dissolution of endogenous blood thrombi. *Biotechnol Prog*. 2014;30(3):656-672. <https://doi.org/10.1002/btpr.1918>
68. Tillett WS, Garner RL. Fibrinolytic activity of hemolytic streptococci. *J Exp Med*. 1933;58:485-502. <https://doi.org/10.1084/jem.58.4.485>
69. Christensen LR. Streptococcal fibrinolysis: a proteolytic reaction due to serum enzyme activated by streptococcal fibrinolysin. *J Gen Physiol*. 1945;28:363-383. <https://doi.org/10.1085/jgp.28.4.363>
70. Malke H, Ferretti JJ. Streptokinase: cloning, expression, and excretion by *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1984;81(11):3557-3561. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.11.3557>
71. Айсина П.Б., Мухаметова Л.И., Гулин Д.А., Гершкович К.Б., Варфоломеев С.Д. Стрептокиназа и стафилокиназа: различия кинетики и механизма взаимодействия с плазминогеном, ингибиторами и фибрином. *Биоорганическая химия*. 2015;41(5):565-578. [A'sina RB, Muhametova LI, Gulina DA, Gershkovich KB, Varfolomeev SD. Streptokinase i stafilocinase: razlichya kinetiki i mehanizma vzaimodeistviya s plazminogenom, ingibitorami i fibrinom. *Bioorganicheskaya Himiya*. 2015;41(5):565-578. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/S0132324315050036>
72. Hirsh J, McDonald IG, Hale GS. Streptokinase therapy in acute major pulmonary embolism. *Am Heart J*. 1970;79(4):574-548. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(70\)90269-3](https://doi.org/10.1016/0002-8703(70)90269-3)
73. Dioguardi N, Lotto A, Levi GF, Rota M, Proto C, Mannucci PM, Rossi P, Lomanto B, Mattei G, Fiorelli G, Agostini A. Controlled trial of streptokinase and heparin in acute myocardial infarction. *Lancet*. 1971;2(7730):891-895. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(71\)92501-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(71)92501-3)
74. Multicentre Acute Stroke Trial — Italy (MAST-I) Group. Randomised controlled trial of streptokinase, aspirin, and combination of both in treatment of acute ischaemic stroke. *Lancet*. 1995;346(8989):1509-1514. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)92049-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(95)92049-8)
75. Multicenter Acute Stroke Trial — Europe Study Group, Hommel M, Cornu C, Boutitie F, Boissel JP. Thrombolytic therapy with streptokinase in acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 1996;335(3):145-150. <https://doi.org/10.1056/NEJM199607183350301>
76. Donnan GA, Davis SM, Chambers BR, Gates PC, Hankey GJ, McNeil JJ, Rosen D, Stewart-Wynne EG, Tuck RR. Streptokinase for acute ischemic stroke with relationship to time of administration: Australian Streptokinase (ASK) Trial Study Group. *JAMA*. 1996;276(12):961-966. <https://doi.org/10.1001/jama.1996.03540120039031>
77. Cornu C, Boutitie F, Candelise L, Boissel JP, Donnan GA, Hommel M, Jallard A, Lees KR. Streptokinase in acute ischemic stroke: an individual patient data meta-analysis: The Thrombolysis in Acute Stroke pooling project. *Stroke*. 2000;31(7):1555-1560. <https://doi.org/10.1161/01.STR.31.7.1555>
78. Buniya HK, Murugan V, Thangadurai C. Cloning and expression of hybrid streptokinase towards clot-specific activity. *J Microbiol Methods*. 2014;98:84-88. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.01.006>
79. Lack CH. Staphylokinase; an activator of plasma protease. *Nature*. 1948;161(4093):559. <https://doi.org/10.1038/161559b0>
80. Sako T, Sawaki S, Sakurai T, Ito S, Yoshizawa Y, Kondo I. Cloning and expression of the staphylokinase gene of *Staphylococcus aureus* in *Escherichia coli*. *Mol Gen Genet*. 1983;190(2):271-277. <https://doi.org/10.1007/bf00330650>
81. Sako T. Immediate entrance to the export pathway after synthesis as a requirement for export of the sak gene product in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1986;167(3):850-854. <https://doi.org/10.1128/jb.167.3.850-854.1986>
82. Collen D, Stockx L, Lacroix H, Suy R, Vanderschueren S. Recombinant staphylokinase variants with altered immunoreactivity. IV: Identification of variants with reduced antibody induction but intact potency. *Circulation*. 1997;95(2):463-472. <https://doi.org/10.1161/01.cir.95.2.463>
83. Su HB, Zhang YG, He JT, Mo W, Zhang YL, Tao XM, Song HY. Construction and characterization of novel staphylokinase variants with antiplatelet aggregation activity and reduced immunogenicity. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2004;36(5):336-342. <https://doi.org/10.1093/abbs/36.5.336>
84. Qi F, Hu C, Yu W, Hu T. Conjugation with eight-arm PEG markedly improves the in vitro activity and prolongs the blood circulation of Staphylokinase. *Bioconjug Chem*. 2018;29(2):451-458. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.7b00770>

85. Вышлов Е.В., Алексеева Я.В., Герасимец Е.А., Марков В.А. Экспериментальные и клинические исследования стафилокиназы и фортелизины. *Кардиология*. 2017;13(2):57-61. [Vyshlov EV, Alekseeva YaV, Gerasimets EA, Markov VA. Eksperimental'nye i klinicheskie issledovaniya stafilokinazy i fortelizina. *Kardiologiya*. 2017;13(2):57-61. (In Russ.)].
86. Schlott B, Gührs KH, Hartmann M, Röcker A, Collen D. NH₂-terminal structural motifs in staphylokinase required for plasminogen activation. *J Biol Chem*. 1998;273(35):22346-22350. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.35.22346>
87. Sakharov DV, Lijnen HR, Rijken DC. Interactions between staphylokinase, plasmin(ogen), and fibrin. Staphylokinase discriminates between free plasminogen and plasminogen bound to partially degraded fibrin. *J Biol Chem*. 1996;271(44):27912-27918. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.44.27912>
88. Silence K, Collen D, Lijnen HR. Interaction between staphylokinase, plasmin(ogen), and alpha 2-antiplasmin. Recycling of staphylokinase after neutralization of the plasmin-staphylokinase complex by alpha 2-antiplasmin. *J Biol Chem*. 1993;268(13):9811-9816.
89. Vanderschueren S, Barrios L, Kerdsinchai P, Van den Heuvel P, Hermans L, Vrolix M, De Man F, Benit E, Muyldermans L, Collen D, Van de Werf F. A randomized trial of recombinant Staphylokinase versus Alteplase for coronary artery patency in acute myocardial infarction. The STAR trial group. *Circulation*. 1995;92:2044-2049. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.92.8.2044>
90. Марков В.А., Дупляков Д.В., Константинов С.Л., Клейн Г.В., Ахсентьев С.Б., Платонов Д.Ю., Вышлов Е.В., Пономарев Э.А., Рабинович Р.М., Макаров Е.Л., Кулибаба Е.В., Крицкая О.В., Баранов Е.А., Талибов О.Б., Герасимец Е.А. Фортелизин в сравнении с Металолизе при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST: результаты многоцентрового рандомизированного исследования ФРИДОМ1. *Кардиологический вестник*. 2017;14(3):52-59. [Markov VA, Duplyakov DV, Konstantinov SL, Klein GV, Aksent'ev SB, Platonov DYu, Vyshlov EV, Ponomarev EA, Rabinovich RM, Makarov EL, Kulibaba EV, Kritskaya OV, Baranov EA, Talibov OB, Gerasimets EA. Fortelizin v sravnenii s Metalozero randomizirovannogo issledovaniya FRIDOM1. *Kardiologicheskii Vestnik*. 2017;14(3):52-59. (In Russ.)].
91. Vanderschueren S, Van Vlaenderen I, Collen D. Intravenous thrombolysis with recombinant staphylokinase versus tissue-type plasminogen activator in a rabbit embolic stroke model. *Stroke*. 1997;28(9):1783-1788. <https://doi.org/10.1161/01.STR.28.9.1783>
92. Bier OE. Action anticoagulante et fibrinolytique de l'extract des glandes salivaires d'une chauve-souris hematophage (*Desmodus rufus*). *C R Soc Biol (Paris)*. 1932;110:129-131.
93. Hawkey C. Plasminogen activator in saliva of the vampire bat *Desmodus rotundus*. *Nature*. 1966;211(5047):434-435. <https://doi.org/10.1038/211434c0>
94. Cartwright T. The plasminogen activator of vampire bat saliva. *Blood*. 1974;43:317-326.
95. Kratzschmar J, Haendler B, Langer G, Boidol W, Bringmann P, Alagon A, Donner P, Schleuning WD. The plasminogen activator family from the salivary gland of the vampire bat *Desmodus rotundus*: cloning and expression. *Gene*. 1991;105:229-237. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(91\)90155-5](https://doi.org/10.1016/0378-1119(91)90155-5)
96. Witt W, Maass B, Baldus B, Hildebrand M, Donner P, Schleuning WD. Coronary thrombolysis with *Desmodus* salivary plasminogen activator in dogs. Fast and persistent recanalization by intravenous bolus administration. *Circulation*. 1994;90:421-426. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.90.1.421>
97. Hacke W, Albers G, Al-Rawi Y, Bogousslavsky J, Davalos A, Eliasziw M, Fischer M, Furlan A, Kaste M, Lees KR, Soehngen M, Warach S; DIAS Study Group. The Desmoteplase in acute ischemic stroke trial (DIAS): a phase II MRI-based 9-hour window acute stroke thrombolysis trial with intravenous desmoteplase. *Stroke*. 2005;36(1):66-73. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000149938.08731.2c>
98. Furlan AJ, Eydind D, Albers GW, Al-Rawi Y, Lees KR, Rowley HA, Sachara C, Soehngen M, Warach S, Hacke W; DEDAS Investigators. Dose escalation of Desmoteplase for acute ischemic stroke (DEDAS): evidence of safety and efficacy 3 to 9 hours after stroke onset. *Stroke*. 2006;37(5):1227-1231. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000217403.66996.6d>
99. Hacke W, Furlan AJ, Al-Rawi Y, Davalos A, Fiebich JB, Gruber F, Kaste M, Lipka LJ, Pedraza S, Ringleb PA, Rowley HA, Schneider D, Schwamm LH, Leal JS, Söhngen M, Teal PA, Wilhelm-Ogunbiyi K, Wintermark M, Warach S. Intravenous desmoteplase in patients with acute ischaemic stroke selected by MRI perfusion-diffusion weighted imaging or perfusion CT (DIAS-2): a prospective, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet Neurol*. 2009;8(2):141-150. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70267-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70267-9)
100. Mori E, Minematsu K, Nakagawara J, Hasegawa Y, Nagahiro S, Okada Y, Truelsen T, Lindsten A, Ogawa A, Yamaguchi T; DIAS-J Investigators. Safety and tolerability of Desmoteplase within 3 to 9 hours after symptoms onset in Japanese patients with ischemic stroke. *Stroke*. 2015;46(9):2549-2554. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.115.009917>
101. Albers GW, von Kummer R, Truelsen T, Jensen JK, Ravn GM, Grønning BA, Chabriat H, Chang KC, Davalos AE, Ford GA, Grotta J, Kaste M, Schwamm LH, Shuaib A; DIAS-3 Investigators. Safety and efficacy of desmoteplase given 3-9 h after ischaemic stroke in patients with occlusion or high-grade stenosis in major cerebral arteries (DIAS-3): a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Neurol*. 2015;14(6):575-584. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00047-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00047-2)
102. von Kummer R, Mori E, Truelsen T, Jensen JS, Grønning BA, Fiebich JB, Lovblad KO, Pedraza S, Romero JM, Chabriat H, Chang KC, Dávalos A, Ford GA, Grotta J, Kaste M, Schwamm LH, Shuaib A, Albers GW; DIAS-4 Investigators. Desmoteplase 3 to 9 hours after major artery occlusion stroke: The DIAS-4 Trial (efficacy and safety study of Desmoteplase to treat acute ischemic stroke). *Stroke*. 2016;47(12):2880-2887. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.013715>
103. Li X, Ling L, Li C, Ma Q. Efficacy and safety of desmoteplase in acute ischemic stroke patients: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(18):e6667. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000006667>