

Фибринолитики: от разрушения тромбов до процессов роста и ремоделирования сосудов, нейрогенеза, канцерогенеза и фиброза

В.А. Ткачук, Е.В. Парфенова, О.С. Плеханова, В.В. Степанова, М.Ю. Меншиков, Е.В. Семина, Р.Ш. Бибилашвили, Е.И. Чазов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

Одним из самых выдающихся научных достижений в области тромболитики является разработка, создание и внедрение фибринолизина – первого советского препарата, разрушающего тромбы. Внутрикoronарное введение фибринолизина позволило снизить летальность больных инфарктом миокарда почти на 20%. За исследования в этой области в 1982 г. Евгений Иванович Чазов был удостоен Ленинской премии. В течение последующих десятилетий под его руководством в Кардиоцентре созданы научные и клинические лаборатории, в которых создавалось новое поколение препаратов на основе фибринолитиков для лечения больных инфарктом миокарда, восстановления кровоснабжения ишемизированной ткани, а также изучались механизмы ремоделирования кровеносных сосудов с участием системы фибринолиза. В результате научных исследований обнаружены новые механизмы регуляции направленного роста сосудов и нервов, роста опухоли и ее метастазирования с участием белков системы фибринолиза. В обзоре рассматривается современное представление о роли системы фибринолиза в разрушении тромба, роста и ремоделирования сосудов, нейрогенеза, канцерогенеза и фиброза. Статья посвящена 90-летию академика Е.И. Чазова.

Ключевые слова: фибринолитическая система, урокиназа, урокиназный рецептор, тканевый активатор плазминогена, ремоделирование сосудов, ангиогенез, нейрогенез, канцерогенез, метастазирование опухоли.

Для цитирования: Ткачук В.А., Парфенова Е.В., Плеханова О.С. и др. Фибринолитики: от разрушения тромбов до процессов роста и ремоделирования сосудов, нейрогенеза, канцерогенеза и фиброза. Терапевтический архив. 2019; 91 (9): 4–9. DOI: 10.26442/00403660.2019.09.000411

Fibrinolytics: from the thrombolysis to the processes of blood vessels growth and remodeling, neurogenesis, carcinogenesis and fibrosis

V.A. Tkachuk, Ye.V. Parfyonova, O.S. Plekhanova, V.V. Stepanova, M.Yu. Menshikov, E.V. Semina, R.Sh. Bibilashvili, E.I. Chazov

National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russia

One of the most outstanding scientific achievements in the thrombolysis is the development and administration of fibrinolytic – the first Soviet drug that lyses blood clots. Intracoronary administration of fibrinolytic reduced the mortality of patients with myocardial infarction by almost 20%. For his work in this field Yevgeny Chazov was awarded the Lenin Prize in 1982. Over the next decades, under his leadership, the Cardiology Center established scientific and clinical laboratories that created new generations of drugs based on fibrinolytics for treating patients with myocardial infarction, restoration of blood flow in ischemic tissue, and also studying the mechanisms of remodeling of blood vessels involving the fibrinolysis system. It has been found new mechanisms of regulation of the navigation of blood vessels and nerves growth, tumor growth and its metastasis with the participation of the fibrinolysis system proteins. The review reports the role of the fibrinolysis system in the thrombolysis, blood vessels growth and remodeling, neurogenesis, carcinogenesis and fibrosis. The article is dedicated to the 90th anniversary of academician E.I. Chazov.

Keywords: fibrinolytic system, urokinase, urokinase receptor, tissue plasminogen activator, arterial remodeling, angiogenesis, neurogenesis, carcinogenesis, tumor metastasis.

For citation: Tkachuk V.A., Parfyonova Ye.V., Plekhanova O.S., et al. Fibrinolytics: from the thrombolysis to the processes of blood vessels growth and remodeling, neurogenesis, carcinogenesis and fibrosis. Therapeutic Archive. 2019; 91 (9): 4–9. DOI: 10.26442/00403660.2019.09.000411

ГМК – гладкомышечные клетки
ММП – матриксные металлопротеиназы
МЭП – мезенхимально-эпителиальный переход
ЭПМ – эпителиально-мезенхимальный переход
FGF-β – фактор роста фибробластов-бета
HGF – фактор роста гепатоцитов

TGF-β – трансформирующий фактор роста-бета
tPA – тканевый активатор плазминогена
uPA – активатор плазминогена урокиназного типа или урокиназа
uPAR – рецептор урокиназы
VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста

Одно из самых выдающихся достижений отечественной кардиологии – это применение фибринолитиков для лечения инфаркта миокарда. Эти исследования совсем еще молодой Евгений Иванович проводил вместе с физиологом из МГУ им. М.В. Ломоносова Галиной Васильевной Андренко. В 70-х годах прошлого века они создали первый советский препарат, разрушающий тромбы – фибринолизин, который успешно прошел испытания в Институте кардиологии [1, 2]. Е.И. Чазов вместе со своими сотрудниками

Л.С. Матвеевой, А.В. Мазаевым и М.Я. Рудой впервые в мире показали возможность растворения тромба при инфаркте миокарда путем внутрикoronарного введения фибринолизина [3]. Впоследствии тромболитическая терапия спасла тысячи жизней, снизив летальность от инфаркта миокарда на 15–20%. В Кардиоцентре под руководством Е.И. Чазова были созданы отечественные фибринолитики – пууролаза и гемаза – модифицированная рекомбинантная урокиназа [4, 5].

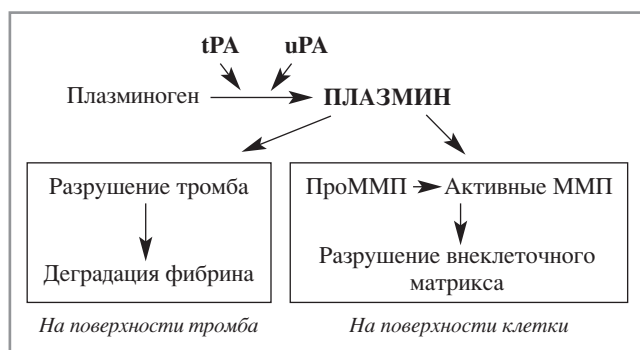


Рис. 1. Компоненты системы фибринолиза регулируют разрушение тромба и внеклеточный протеолиз.

Классическая роль фибринолитической системы – это препятствование образованию тромбов в сосудах. Она реализуется за счет активаторов плазминогена тканевого и урокиназного типов (урокиназы), превращающих его в активную протеазу плазмин, который расщепляет фибрин и препятствует образованию тромбов [6] (рис. 1). Однако оказалось, что эта система выполняет и другую функцию – способствует ремоделированию тканей при различных физиологических и патологических процессах. Ключевым фактором тканевого ремоделирования является направленная миграция клеток и перестройка внеклеточного матрикса. Этим свойством обладает урокиназа, которое отсутствует у других протеаз, так как только у урокиназы есть рецептор, обладающий свободной подвижностью в мембране клетки [7] (рис. 2, А, см. на цветной вклейке). При движении клетки он способен перемещаться на передний край и, связывая урокиназу, локализовать протеолиз перед ползущей клеткой (рис. 2, Б, В, см. на цветной вклейке). Урокиназу, ее рецептор и ингибитор часто называют урокиназной системой, подчеркивая ее самостоятельное значение в процессах тканевого ремоделирования.

Практически все компоненты системы фибринолиза экспрессируются клетками сосудистой стенки, при этом урокиназа и ее рецептор экспрессируются всеми клетками сосуда – эндотелиальными, гладкомышечными, фибробластами, а также клетками воспаления, мигрирующими в сосудистую стенку из крови [8].

В начале 90-х годов прошлого столетия была крайне актуальной проблема рестенозов после ангиопластики. И се-

годня, несмотря на существенный прогресс в технике вмешательства, позволивший повысить эффективность процедур и снизить число осложнений, у части пациентов (до 11%) через несколько месяцев после эндоваскулярных процедур развивается повторный стеноз артерий или рестеноз, а по некоторым данным, частота рестенозов, например, бедренной артерии достигает 38% [9, 10]. В лаборатории молекулярной эндокринологии Кардиоцентра мы исследовали экспрессию компонентов урокиназной системы в стенке сонной артерии крысы после экспериментальной баллонной ангиопластики. Оказалось, что экспрессия урокиназы и ее рецептора (как мРНК, так и белков) значительно возрастает уже в первые часы после баллонирования, причем увеличение белков регистрируется с помощью иммуногистохимии на клетках формирующейся неоинтимы, меди и адвентиции, коррелируя с увеличением процессов миграции и пролиферации этих клеток [11].

Подавление урокиназы с помощью нейтрализующих антител или введение протеолитически неактивного фермента, конкурирующего с эндогенной урокиназой за связывание с рецептором, предотвращало рост неоинтимы [12]. Это указывает на ключевое значение урокиназы и ее рецептора в сосудистой стенке в развитии стеноза артерии после повреждения. Нанесение урокиназы на поврежденную сонную артерию в флуороническом геле, приводящее к увеличению экзогенной урокиназы в стенке сосуда, вызывало ускоренный рост как неоинтимы, так и меди, и адвентиции, что приводило к сужению просвета артерии [11]. Помимо того, урокиназа стимулировала пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток (ГМК) сосуда, а также трансдифференцировку фибробластов в миофибробласты. Последнее было впервые показано учеными Кардиоцентра, что представлялось сенсационной находкой для специалистов по сосудистой стенке [13].

Два активатора плазминогена, урокиназа и тканевый активатор плазминогена (tPA), имеют схожую функцию в регуляции фибринолиза, но их действие на сосудистую стенку оказалось различным. Так, если урокиназа способствует не только росту неоинтимы в поврежденной артерии, но и сужению сосуда – констриктивному ремоделированию за счет формирования утолщенной ригидной адвентиции, то tPA, напротив, вызывает уменьшение роста неоинтимы и расширение сосуда, что способствует положительному ремоделированию [14]. С помощью метода транскрипционных матриц мы показали, что при воздействии урокиназы на поврежденный сосуд в нем повышается экспрессия группы провоспалительных генов, а также генов, регулирующих митохондриальное дыхание и оксидативный стресс [15]. Тканевый активатор плазминогена, напротив, повышает экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию тонуса сосудов, а также генов, участвующих в функционировании нервной ткани [16]. Следовательно, активаторы плазминогена могут оказывать влияние на процессы транскрипции и трансляции генов. Так, урокиназа стимулирует пролиферацию сосудистых ГМК через индукцию оксидаз Nox1 и Nox4, которые увеличивают продукцию активных форм кислорода [17] (рис. 3, см. на цветной вклейке).

Влияние урокиназы на экспрессию генов может осуществляться не только через активацию внутриклеточных

Сведения об авторах:

Ткачук Всеволод Арсеньевич – акад., руководитель лаб. молекулярной эндокринологии НИИЭК ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, ORCID: 0000-0002-7492-747X

Парфенова Елена Викторовна – проф., директор НИИЭК ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, ORCID: 0000-0002-0969-5780

Плеханова Ольга Сергеевна – д.м.н., в.н.с. лаб. молекулярной эндокринологии НИИЭК ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, ORCID: 0000-0002-4693-295X

Степанова Виктория Викторовна – к.б.н., Research associate professor, Pathology and laboratory medicine Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, PA, USA, ORCID: 0000-0002-9313-5742

Меньшиков Михаил Юрьевич – д.м.н., в.н.с. лаб. ангиогенеза НИИЭК ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, ORCID: 0000-0002-3348-297X

Библиашвили Роберт Шалвович – к.ф.-м.н., руководитель лаб. геномной инженерии НИИЭК ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России Чазов Евгений Иванович – акад., почетный директор ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России

Контактная информация:

Семина Екатерина Владимировна – к.б.н., в.н.с. лаб. молекулярной эндокринологии НИИЭК ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, тел.: +7(495)414-67-13, +7(905)701-68-72; e-mail: e-semina@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-3927-9286

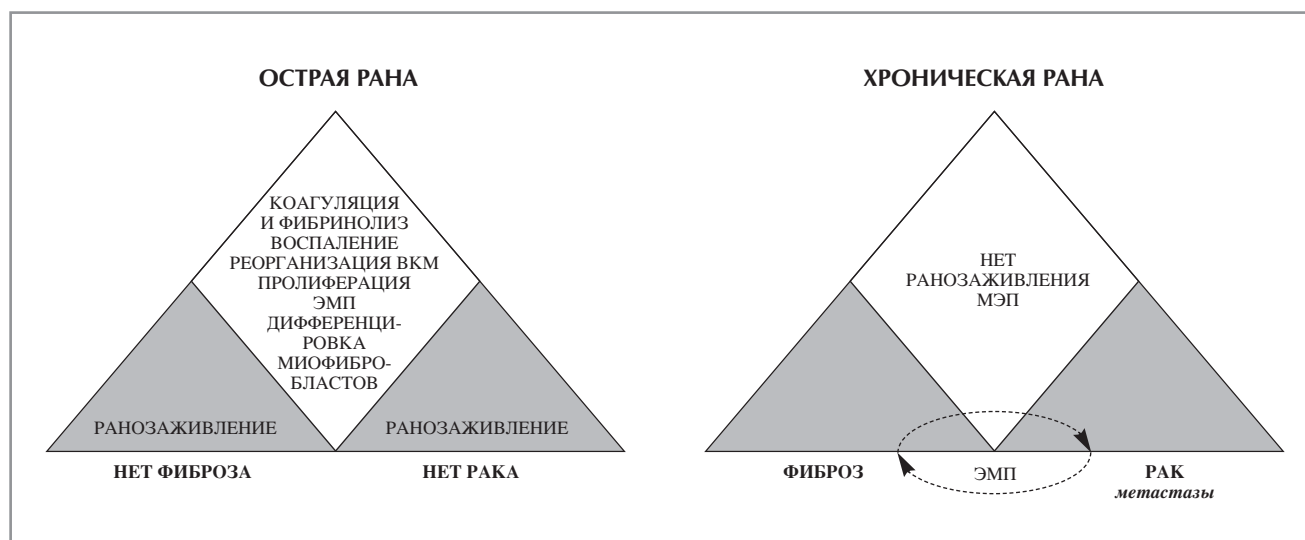


Рис. 4. В незаживающей ране многократно происходит ЭМП и МЭП, что приводит либо к фиброзу, либо канцерогенезу.

сигнальных каскадов, но и посредством транслокации урокиназы в ядро клетки [18]. Мы показали, что транслоцированная в ядро урокиназа способна связываться с несколькими транскрипционными факторами и, таким образом, регулировать экспрессию генов, в частности экспрессию гладкомышечного альфа-актина [18, 19]. Это способствует изменению фенотипа фибробластов на сократительный фенотип миофибробластов, что ранее показано нами на модели баллонирования сонной артерии крысы при нанесении на нее урокиназы [13] (рис. 3, см. на цветной вклейке).

При ишемии урокиназа активируется, вследствие чего происходит разрушение матрикса, а значит, и высвобождение ангиогенных факторов роста, приводящее к стимуляции ангиогенеза [20]. Формирование новых сосудистых отростков инициируется сосудистым эндотелиальным фактором роста (VEGF), экспрессия которого возрастает в зоне ишемии. Взаимодействуя со своим рецептором на эндотелиальных клетках, он индуцирует увеличение сосудистой проницаемости и экспрессию урокиназы и ее рецептора, протеолитическая активность которой абсолютно необходима для начальных событий в ангиогенезе: разрушения базальной мембраны и миграции эндотелиальных клеток в интерстициальный матрикс [21]. Мигрирующие клетки должны быть морфологически поляризованы, чтобы сфокусировать протеолитическую активность на переднем крае для деградации матрикса по пути движения клетки. Более того, именно протеолитическая активность, запускаемая урокиназой, способствует активации важнейших ангиогенных факторов, таких как VEGF, HGF и трансформирующий фактор роста-бета (TGF- β), и высвобождению ряда факторов, связанных с матриксом, например, фактора роста фибробластов-бета (FGF- β) [22] (см. рис. 2 на цветной вклейке).

Для проверки возможности стимуляции процессов ангиогенеза в ишемизированных тканях мы использовали экспрессию урокиназы с помощью плазмидного вектора. Было показано, что экспрессия гена урокиназы стимулирует васкуляризацию и восстановление кровоснабжения ишемизированных скелетных мышц, не вызывая при этом развития отеков конечности, в отличие от VEGF – ангиогенного фактора, наиболее часто используемого для стимуляции ангиогенеза, но обладающего этим побочным действием [23]. На модели инфаркта миокарда введение гена урокиназы также эффективно стимулировало ангиоар-

териогенез в миокарде и уменьшало размер инфаркта. Сегодня генотерапевтическому препарату на основе урокиназы (Юпикор) осталось завершить клинические испытания.

Получены свидетельства того, что урокиназная система может регулировать не только скорость роста сосудов и нервов, но и определять траекторию их роста и участвовать в ветвлении сосудов и нервов, т.е., по сути, выступать в роли так называемой навигационной системы [24]. Мы обнаружили экспрессию рецептора урокиназы на конусе роста аксонов и на эндотелиальных клетках растущих сосудов [24, 25]. Такая экспрессия присуща многим навигационным рецепторам – эфринам, семафоринам, Notch белкам и другим классическим навигационным рецепторам [26]. Рецептор урокиназы, экспрессируемый на лидирующих эндотелиальных клетках (так называемых тип-клетках) растущих сосудов, взаимодействуя с урокиназой, может не только ремоделировать матрикс, облегчая миграцию клеток эндотелия, но и опосредовать внутриклеточную сигнализацию, регулируя направление миграции этих клеток [27].

Введение антител к рецептору урокиназы, которые нарушают его связывание с урокиназой, изменяет миграцию сосудистых клеток и формирование капилляроподобных структур, усиливая их ветвление, а также изменяет фенотип ГМК с миграторного на покоящийся [25]. Блокирование урокиназной системы в растущих сосудах может отражать утрату способности эндотелиальных клеток распознавать навигационные сигналы микроокружения.

Аналогичные процессы обнаружены и в нейронах, где нами впервые продемонстрированы навигационные свойства урокиназного рецептора. При блокировании рецептора урокиназы происходит нарушение навигации аксона – траектория роста аксона изменяется и усиливается его ветвление [25]. Навигационные свойства рецептора урокиназы подтверждены на другой модели – линейных клетках нейробластомы, которые являются широко используемой экспериментальной моделью для исследования процессов роста аксонов. Точно так же, как и на модели спинальных ганглиев, мы увидели, что при блокировании рецептора урокиназы нарушается рост нейритов, выражающийся в усилении их ветвления. Таким образом, нами обнаружено участие рецептора урокиназы в направленном росте аксонов и выявлено, что он может играть важную роль в формировании нейронных сетей при эмбриогенезе и созревании структур головного мозга [28].

Изменяя экспрессию урокиназного рецептора в эмбрионах мыши на ранних стадиях эмбрионального развития *in vivo*, на сроках, важных для формирования коры головного мозга (E14), мы обнаружили, что гиперэкспрессирующие рецептор урокиназы нейроны лучше мигрируют в верхние слои коры по сравнению с контрольными нейронами [наши не опубликованные данные]. Это те области, которые у человека и млекопитающих отвечают за когнитивные функции и высшую нервную деятельность. Возможно, именно поэтому у мышей, нокаутных по гену рецептора урокиназы, развиваются тяжелые эпилепсии, связанные с дефицитом тормозных интернейронов в коре головного мозга, а также девиации в поведении, характерные для аутизма и шизофрении у людей [29]. Об участии рецептора урокиназы в развитии аутизма и когнитивных расстройств у людей свидетельствуют данные о высокой частоте встречаемости полиморфизма гена *uPAR* (Т-аллеля rs344781) у больных с расстройствами аутистического спектра и речевыми нарушениями [30].

Оказалось, что урокиназная система как важный участник фибринолиза нужна не только для ремоделирования внеклеточного матрикса, облегчения роста сосудов и нервов при регенерации, но и для миграции клеток, в том числе стволовых, в область травмы, а также для изменения фенотипа уже дифференцированных клеток, так называемой трансдифференцировке, более известной как эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) [31]. Эпителиальные клетки находятся в виде многоклеточного пласта за счет прочных межклеточных контактов. Оказалось, что эти же клетки могут выходить из пласта, разрывая контакты, и превращаться в одиночные мигрирующие клетки, обладающие мезенхимальным фенотипом – т.е. имеющие сократительные белки и черты стволовости. Данные процессы происходят при повреждении тканей и играют важную роль при репарации и регенерации. При завершении процессов регенерации происходит обратный процесс – мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП), в результате которого экспрессия маркеров мезенхимального фенотипа снижается, и клетки восстанавливают свои эпителиальные свойства. Нами впервые было показано, что экспрессия рецептора урокиназы удерживает клетки в эпителиальном фенотипе, а нокаут по рецептору активирует ЭМП.

Используя технологию редактирования генома CRISPR/Cas9, мы нокаутировали *uPAR* в клетках нейробластомы Neuro2a и обнаружили увеличение их миграции, снижение экспрессии эпителиальных маркеров и усиление экспрессии мезенхимальных маркеров.

Превращение эпителиальных клеток в мезенхимальные способствует быстрому заживлению раны. Если этот процесс завершается превращением мезенхимальных клеток в эпителиальные, то заживление происходит без фиброза [31]. Если же этот процесс нарушен, то мезенхимальные клетки формируют рубец, превращаются в фибробласты и секретируют внеклеточный матрикс. В том случае, если рана не заживает, не покрывается эпителиальным слоем или же фиброзной тканью, может развиваться опухоль [32]. Хроническая рана описывается как образование, в которой постоянно идет коагуляция, фиброз, воспаление, реорганизация внеклеточного матрикса и ЭМП из клеток профиброзных в проракковые. Очень часто это завершается онкологическим перерождением (рис. 4).

ЭМП при раке сопряжен с активацией процессов миграции опухолевых клеток, что является причиной их инвазии и появлением дормантных метастазов – крайне неблагоприятного процесса, при котором опухолевые клетки проявляют стволовость и множественную устойчивость к проводимой химиотерапии [33].

Наши данные, а также данные других авторов свидетельствуют о том, что урокиназная система и повышенная ее экспрессия в клетках опухоли являются неблагоприятными прогностическими маркерами канцерогенеза и метастазирования. Известно, что экспрессия *uPA*, *uPAR* и *PAI-1* в опухолевых клетках рака кожи повышена. Повышенная экспрессия *uPAR* также обнаружена в строме базалиомы, окружающей опухолевые клетки [34]. Повышенный уровень *uPAR* в строме опухоли позволяет предполагать наличие взаимодействия урокиназы с ее рецептором, что способствует пролиферации и инвазии раковых клеток.

В ходе этих работ созданы экспериментальные подходы для подавления или блокирования урокиназной системы в опухолях; получены антитела, подавляющие протеолитическую активность урокиназы, блокирующие урокиназный рецептор, а также химические высокоаффинные ингибиторы и РНК олигонуклеотиды для РНК-интерференции. Используя технологию редактирования генома CRISPR/Cas9, созданы генетические конструкции для подавления экспрессии гена *uPAR* в опухолевых клетках, что приводит к гибели клеток по каспазозависимому пути апоптоза [35, 36].

Заключение

Эндогенная урокиназа секретируется в виде неактивного белка всеми клетками сосудистой стенки под действием механического стресса или повреждений и переводится в каталитически активную форму (протеазу) за счет ограниченного протеолиза, который осуществляет плазмин, или в результате связывания со своим рецептором на поверхности сосудистых клеток. Основная функция *uPA* – осуществлять ограниченный протеолиз плазминогена с превращением его в плазмин и, тем самым, запускать процессы разрушения фибрина и других матриксных белков. Нами показано прямое действие урокиназы на активацию матриксных металлопротеиназ (ММП) 2-го и 9-го типа. Существуют свидетельства, что урокиназа может непосредственно активировать некоторые факторы роста, превращая их из проангиогенных в ангиогенные.

На поверхности сосудистых клеток локализован GPI-зависимый рецептор урокиназы *uPAR*, который совершает быстрые латеральные движения в липидном бислое. Связывание урокиназы с этим рецептором запускает внутриклеточную сигнализацию, по механизму схожую с той, которая характеризует цитокины (Rho, p38, p42/44, JAK/STAT). В результате этой сигнализации происходит изменение морфологии клеток и их миграция. В мигрирующей клетке *uPAR* локализован на лидирующем крае и находится в комплексе с интегринами. В результате этого урокиназа, связываясь с рецептором, окисляется на переднем крае клетки и активирует перед движущейся клеткой каскад реакций, запускающих разрушение матриксных белков и освобождающих пространство для перемещения клетки. Не связанная с рецептором урокиназа переносится в ядро клетки с помощью нуклеолина и взаимодействует с факторами транскрипции, что приводит к экспрессии STAT и альфа-актина и перепрограммирует фибробласты в миофибробласты. Кроме того, эндогенная урокиназа вызывает экспрессию Nox1 и Nox4 гладкомышечными клетками сосудов, которые запускают образование свободных радикалов кислорода и оказывают стимулирующее влияние на пролиферацию клеток. Таким образом, нами показано, что урокиназа обладает тремя свойствами: это протеаза, цитокин и транскрипционный фактор.

Рецептор урокиназы *uPAR* имеет ряд самостоятельных функций, участие урокиназы в которых оказывается необязательным, но может модулировать эти свойства. *uPAR*

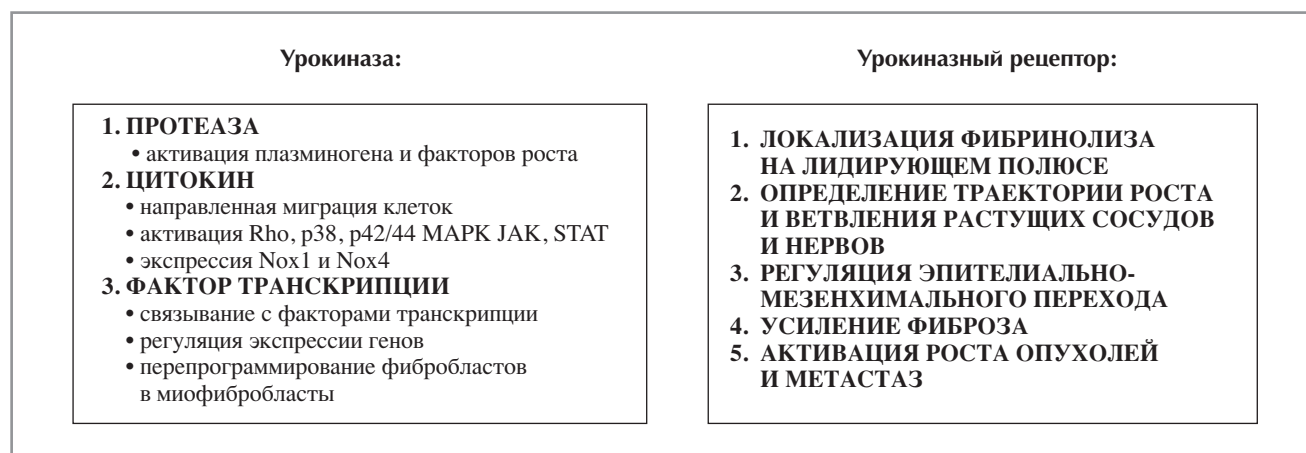


Рис. 5. Современное представление урокиназной системы как многофункционального регулятора клеточных функций.

опосредует траекторию роста сосудов и нервов, а его отсутствие способствует ветвлению этих структур. uPAR поддерживает клетки в эпителиальном фенотипе, а при активации ЭМП uPAR усиливает процессы фиброза. В раковой опухоли экспрессия uPAR и uPA выявляется в разных типах клеток одной и той же ткани, а их взаимодействие приводит к направленному росту опухоли, активируя при этом как инвазию, так и метастазы (рис. 5).

Таким образом, помимо участия в процессах фибринолиза, урокиназная система участвует в процессах феноти-

ческой модуляции клеток, морфогенеза органов и тканей и прогрессии раковых опухолей, что делает ее перспективной мишенью для разработки лекарственных средств, воздействующих на эти процессы.

Финансирование: в обзоре приведены результаты собственных исследований, которые были поддержаны грантами РФФИ №17-04-00386 и №118-015-00430.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Чазов Е.И. О прижизненном разрушении экспериментального тромбоза в коронарных сосудах. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1961;8:22-5 [Chazov EI. About the lifetime destruction of experimental thrombosis in the coronary vessels. *Bulletin experimentalnoi biologii i medicini*. 1961;8:22-5 (In Russ.)].
2. Чазов Е.И., Андреев Г.В. Первый опыт терапии тромбоза отечественным фибринолизиним. *Кардиология*. 1962;4:59-64 [Chazov EI, Andreev GV. The first experience of thrombosis therapy with domestic fibrinolytic. *Kardiologiya*. 1962;4:59-64 (In Russ.)].
3. Чазов Е.И., Матвеева Л.С., Мазаев А.В., Саргин К.Е., Садовская Г.В., Руда М.Я. Внутрикoronарное назначение фибринолизина при остром инфаркте миокарда. *Терапевтический архив*. 1976;48(4):8-19 [Chazov EI, Matveeva LS, Mazaev AV, Sargin KE, Sadovskaya GV, Ruda MI. Intracoronary administration of fibrinolytic in acute myocardial infarct. *Therapeutic Archive*. 1976;48(4):8-19 (In Russ.)].
4. Патент СССР на изобретение №1692151. Бюллетень №13. Белогуров А.А., Бибилашвили Р.Ш., Горюнова Л.Е., Дельвер Е.П., Домкин В.Д., Ефимова Е.П., Рыбалкин И.Н., Савочкина Л.П., Сидоров М.А., Скамров А.В., Ченчик А.А., Шевелев А.Я., Южаков А.А. Рекombинантная плазмидная ДНК ruavs, кодирующая активатор плазминогена урокиназного типа, способ ее конструирования и штамм бактерий *escherichia coli* продуцент активатора плазминогена урокиназного типа. Ссылка активна на 07.07.2019 [http://patents.su/1-1692151-rekombinantnaya-plazmidnaya-dnk-ruavs-kodiruyushchaya-aktivator-pl.html](http://patents.su/1-1692151-rekombinantnaya-plazmidnaya-dnk-ruavs-kodiruyushchaya-aktivator-plazminogena-urokinaznogo-tipa-sposob-ee-konstruirovaniya-i-shtamm-bakterijj-escherichia-coli-producent-aktivatora-pl.html) [Патент RF for the invention №1692151 Bull. №13. Belogurov AA, Bibilashvili RSh, Goryunova LE, Delver EP, Domkin VD, Efimova EP, Rybalkin IN, Savochkina LP, Sidorov MA, Skamrov AV, Chenchik AA, Shevelev AI, Yuzhakov AA. Rekombinantnaya plazmidnaya DNK ruavs, kodiruyushchaya aktivator plazminogena urokinaznogo tipa, sposob yeye konstruirovaniya i shtamm bakterijj escherichia coli produtsent aktivatora plazminogena urokinaznogo tipa (In Russ.)].
5. Чазов Е.И. Роль достижений фундаментальной науки в повышении эффективности лечения. *Терапевтический архив*. 2005;77(8):5-9 [Chazov EI. The role of fundamental science achievements in raising treatment efficacy. *Therapeutic Archive*. 2005;77(8):5-9 (In Russ.)].
6. Nicholl SM, Roztocil E, Davies MG. Plasminogen activator system and vascular disease. *Curr Vasc Pharmacol*. 2006;4:101-16. doi: 10.2174/157016106776359880
7. Blasi F. The urokinase receptor: a cell surface, regulated chemokine. *APMIS*. 1999;107:96-101. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1999.tb01531.x>
8. Tkachuk VA, Plekhanova OS, Parfyonova YV. Regulation of arterial remodeling and angiogenesis by urokinase-type plasminogen activator. *Can J Physiol Pharmacol*. 2009;87(4):231-51. doi: 10.1139/Y08-113
9. Cui K, Lyu S, Song X, Yuan F, Xu F, Zhang M, Wang W, Zhang D, Dai J. Drug-eluting balloon versus bare-metal stent and drug-eluting stent for de novo coronary artery disease: A systematic review and meta-analysis of 14 randomized controlled trials. *PLoS One*. 2017;12(4):e0176365. doi: 10.1371/journal.pone.0176365. eCollection 2017
10. Araújo PV, Ribeiro MS, Dalio MB, Rocha LA, Viaro F, Dellalibera Joviliano R, Piccinato CE, Évora PR, Joviliano EE. Interleukins and inflammatory markers in in-stent restenosis after femoral percutaneous transluminal angioplasty. *Ann Vasc Surg*. 2015;29(4):731-7. doi: 10.1016/j.avsg.2014.12.006
11. Plekhanova O, Parfyonova Ye, Bibilashvily R, Domogatskii S, Stepanova V, Gulba DC, Agrotis A, Bobik A, Tkachuk V. Urokinase plasminogen activator augments cell proliferation and neointima formation in injured arteries via proteolytic mechanisms. *Atherosclerosis*. 2001;159(2):297-306. doi: [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(01\)00511-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(01)00511-1)
12. Plekhanova O, Parfyonova Ye, Bibilashvily R, Stepanova V, Bobik A, Tkachuk V. Urokinase plasminogen activator enhances intima and media growth and reduces lumen size in carotid arteries. *J Hypertension*. 2000;18(8):1065-9. doi: 10.1097/00004872-200018080-00011
13. Plekhanova O, Stepanova V, Ratner E, Bobik A, Tkachuk V, Parfyonova Ye. Urokinase plasminogen activator in injured adventitia increases the number of myofibroblasts and augments early proliferation. *J Vasc Res*. 2006;43(5):437-46. doi: 10.1159/000094906

К статье В.А. Ткачук и соавт. «Фибринолитики: от разрушения тромбов до процессов роста и ремоделирования сосудов, нейрогенеза, канцерогенеза и фиброза»

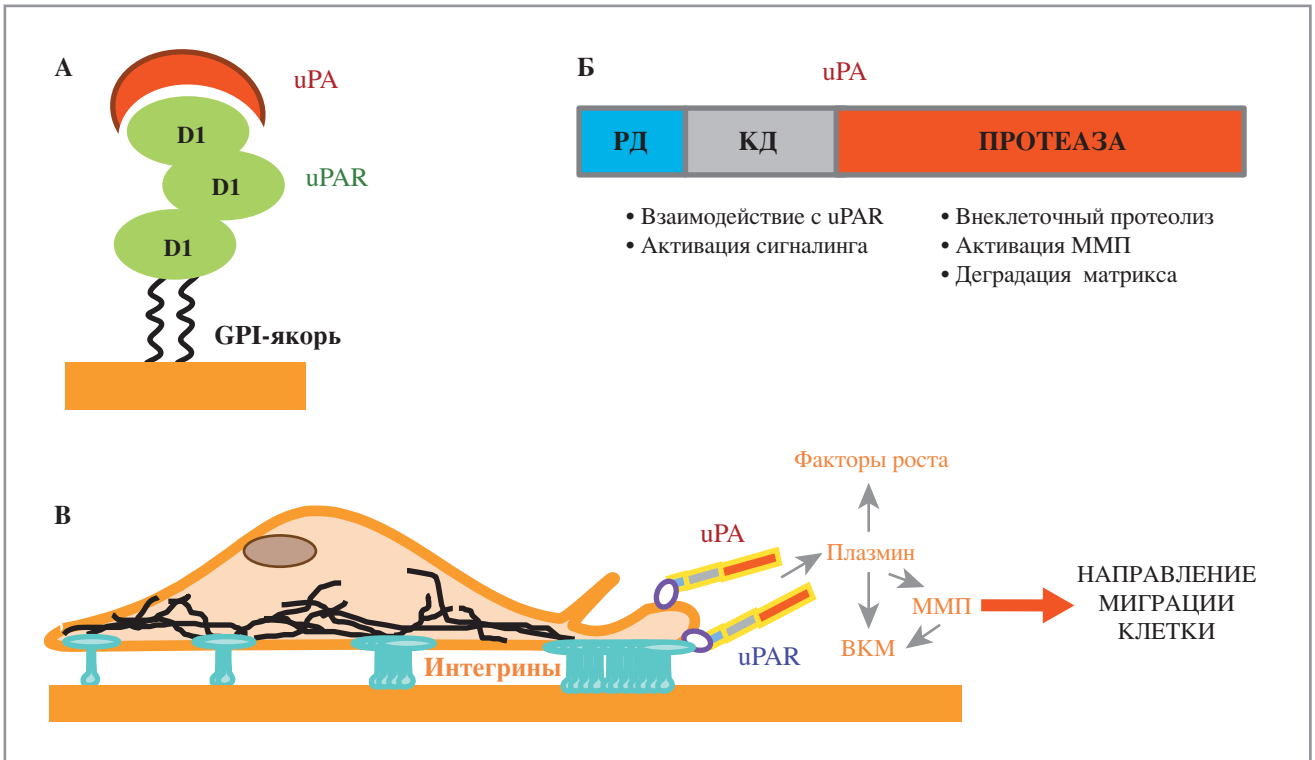


Рис. 2. Механизмы влияния урокиназы и ее рецептора на миграцию клеток.

uPA – активатор плазминогена урокиназного типа или урокиназа, uPAR – рецептор урокиназы, GPI – гликозилфосфатидилинозитол, D1–D3 – домены рецептора урокиназы, РД – ростовой домен, КД – Крингл-домен, ВКМ – внеклеточный матрикс.

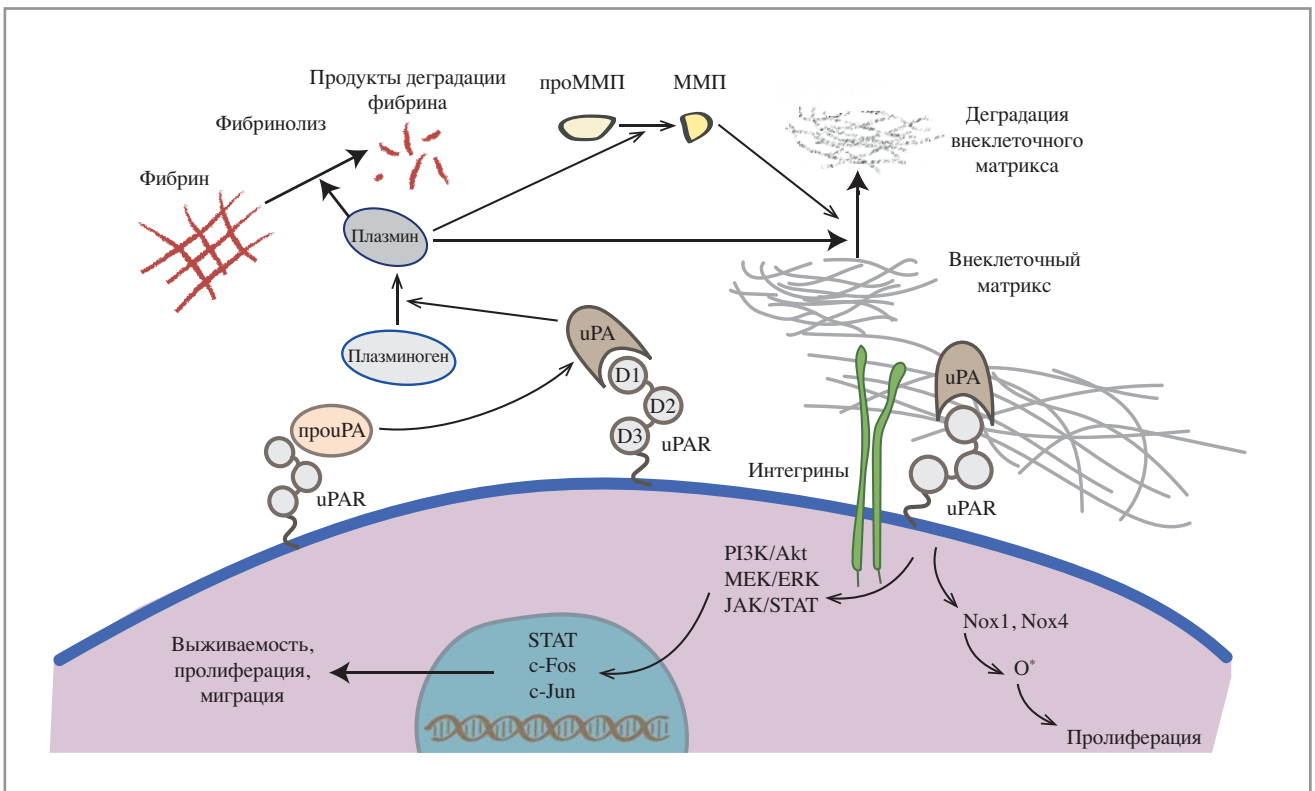


Рис. 3. Общие свойства урокиназной системы.

14. Плеханова О.С., Соломатина М.А., Домогатский С.П., Наумов В.Г., Ткачук В.А., Парфенова Е.В., Чазов Е.И. Урокиназа стимулирует, а тканевой активатор плазминогена подавляет развитие стеноза кровеносных сосудов. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2001;87(5):584-93 [Plekhanova OS, Solomatina MA, Domogatskii SP, Naumov VG, Tkachuk VA, Parfenova EV, Chazov EI. Urokinase stimulates whereas tissue plasminogen activator attenuates blood vessel stenosis. *Ross Fiziol Zh Im IM Sechenova*. 2001;87(5):584-93 (In Russ.)].
15. Plekhanova O, Berk BC, Bashtrykov P, Brooks A, Tkachuk V, Parfyonova Ye. Oligonucleotide microarrays reveal regulated genes related to inward arterial remodeling induced by urokinase plasminogen activator. *J Vasc Res*. 2009;46(3):177-87. doi: 10.1159/000156703
16. Plekhanova O, Parfyonova Y, Beloglazova I, Berk BC and Tkachuk V. Oligonucleotide microarrays identified potential regulatory genes related to early outward arterial remodeling induced by tissue plasminogen activator. *Front Physiol*. 2019;10:493. doi: 10.3389/fphys.2019.00493
17. Menshikov M, Plekhanova O, Cai H, Chalupsky K, Parfyonova Y, Bashtrikov P, Tkachuk V, Berk BC. Urokinase plasminogen activator stimulates vascular smooth muscle cell proliferation via redox-dependent pathways. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:801-7. doi: 10.1161/01.ATV.0000207277.27432.15
18. Stepanova V, Lebedeva T, Kuo A, Yarovoi S, Tkachuk S, Zaitsev S, Bdeir K, Dumler I, Marks MS, Parfyonova Y, Tkachuk VA, Higazi AA, Cines DB. Nuclear translocation of urokinase-type plasminogen activator. *Blood*. 2008;112:100-10. doi: 10.1182/blood-2007-07-104455
19. Stepanova V, Jayaraman PS, Zaitsev SV, Lebedeva T, Bdeir K, Kershaw R, Holman KR, Parfyonova YV, Semina EV, Beloglazova IB, Tkachuk VA, Cines DB. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) promotes angiogenesis by attenuating proline-rich homeodomain protein (PRH) transcription factor activity and de-repressing vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor expression. *J Biol Chem*. 2016;291(29):15029-45. doi: 10.1074/jbc.M115.678490
20. Van Weel V, van Tongeren RB, van Hinsbergh VW, van Bockel JH, Quax PH. Vascular growth in ischemic limbs: a review of mechanisms and possible therapeutic stimulation. *Ann Vasc Surg*. 2008;22:582-97. doi: 10.1016/j.avsg.2008.02.017
21. Beloglazova IB, Zubkova ES, Stambol'skii DV, Plekhanova OS, Men'shikov MY, Akopyan ZhA, Bibilashvili RSh, Parfenova EV, Tkachuk VA. Proteolytically inactive recombinant forms of urokinase suppress migration of endothelial cells. *Bull Exp Biol Med*. 2014;156(6):756-9. doi: 10.1007/s10517-014-2442-z
22. Парфенова Е.В., Плеханова О.С., Меньшиков М.Ю., Степанова В.В., Ткачук В.А. Регуляция роста и ремоделирования кровеносных сосудов: уникальная роль урокиназы. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2009;95(5):442-64 [Parfenova EV, Plekhanova OS, Men'shikov MIu, Stepanova VV, Tkachuk VA. Regulation of growth and remodeling of blood vessels: the unique role of urokinase. *Ross Fiziol Zh Im IM Sechenova*. 2009;95(5):442-64 (In Russ.)].
23. Traktuev DO, Tsokolaeva ZI, Shevelev AA, Talitskiy KA, Stepanova VV, Johnstone BH, Rahmat-Zade TM, Kapustin AN, Tkachuk VA, March KL, Parfyonova YV. Urokinase gene transfer augments angiogenesis in ischemic skeletal and myocardial muscle. *Mol Ther*. 2007;15:1939-46. doi: 10.1038/sj.mt.6300262
24. Semina E, Rubina K, Syssoeva V, Rysenkova K, Klimovich P, Plekhanova O, Tkachuk V. Urokinase and urokinase receptor participate in regulation of neuronal migration, axon growth and branching. *Eur J Cell Biol*. 2016 Sep;95(9):295-310. doi: 10.1016/j.ejcb.2016.05.003
25. Семина Е.В., Рубина К.А., Сысоева В.Ю., Макаревич П.И., Парфенова Е.В., Ткачук В.А. Участие урокиназной системы в миграции сосудистых клеток и в регуляции роста и ветвления капилляров. *Цитология*. 2015;57(10):689-98 [Semina EV, Rubina KA, Syssoeva VYu, Makarevich PI, Parfenova EV, Tkachuk VA. Participation of the urokinase system in the migration of vascular cells and in the regulation of growth and branching of capillaries. *Citologia*. 2015;57(10):689-98 (In Russ.)].
26. Рубина К.А., Семина Е.В., Ткачук В.А. Навигационные молекулы и хемокины в процессах роста и ремоделирования сосудов. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2017;5:313-27 [Rubina KA, Semina EV, Tkachuk VA. Navigation molecules and chemokines in the processes of growth and remodeling of blood vessels. *J Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2017;5:313-27 (In Russ.)].
27. Witmer AN, van Blijswijk BC, van Noorden CJ, Vrensen GF, Schlingemann RO. In vivo angiogenic phenotype of endothelial cells and pericytes induced by vascular endothelial growth factor-A. *J Histochem Cytochem*. 2004;52(1):39-52. doi: 10.1177/002215540405200105
28. Семина Е.В., Рубина К.А., Степанова В.В., Ткачук В.А. Участие рецептора урокиназы и его эндогенных лигандов в развитии головного мозга и формировании когнитивных функций. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2016;102(8):881-903 [Semina EV, Rubina KA, Stepanova VV, Tkachuk VA. The participation of the urokinase receptor and its endogenous ligands in the development of the brain and the formation of cognitive functions. *Russian physiological journal IM Sechenov*. 2016;102(8):881-903 (In Russ.)].
29. Levitt P. Disruption of Interneuron Development. *Epilepsia*. 2005;46(7):22-8. doi: https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00305.x
30. Semina EV, Rubina KA, Stepanova VV, Tkachuk VA. Involvement of the Urokinase Receptor and Its Endogenous Ligands in the Development of the Brain and the Formation of Cognitive Functions. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2018;48(1):16-27. doi: 10.1007/s11055-017-0525-9
31. Stone RC, Pastar I, Ojeh N, Chen V, Liu S, Garzon KI, Tomic-Canic M. Epithelial-mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis. *Cell Tissue Res*. 2016;365(3):495-506. doi: 10.1007/s00441-016-2464-0
32. Rybinski B, Franco-Barraza J, Cukierman E. The wound healing, chronic fibrosis, and cancer progression triad. *Physiol Genomics*. 2014;46(7):223-44. doi: 10.1152/physiolgenomics.00158.2013
33. Weidenfeld K, Barkan D. EMT and Stemness in Tumor Dormancy and Outgrowth: Are They Intertwined Processes? *Front Oncol*. 2018;8:381. doi: 10.3389/fonc.2018.00381
34. Rubina KA, Syssoeva VYu, Zagorujko EI, Tsokolaeva ZI, Kurdina MI, Parfyonova YeV, Tkachuk VA. Increased expression of uPA, uPAR, and PAI-1 in psoriatic skin and in basal cell carcinomas. *Archives of Dermatological Research*. 2017;309(6):433-42. doi: 10.1007/s00403-017-1738-z
35. Rysenkova KD, Semina EV, Karagyaur MN, Shmakova AA, Dyikanov DT, Vasiluev PA, Rubtsov YP, Rubina KA, Tkachuk VA. CRISPR/Cas9 nickase mediated targeting of urokinase receptor gene inhibits neuroblastoma cell proliferation. *Oncotarget*. 2018;9(50):29414-30. doi: 10.18632/oncotarget.25647
36. Dyikanov DT, Vasiluev PA, Rysenkova KD, Aleksandrushkina NA, Tyurin-Kuzmin PA, Kulebyakin KY, Rubtsov YP, Shmakova AA, Evseeva MN, Balatskiy AV, Semina EV, Rostovtseva AI, Makarevich PI, Karagyaur MN. Optimization of CRISPR/Cas9 Technology to Knock Out Genes of Interest in Aneuploid Cell Lines. *Tissue Eng Part C Methods*. 2019;25(3):168-75. doi: 10.1089/ten.TEC.2018.0365

Поступила 22.07.2019