

# Trombolitik Tedavide Yenilikler

Doç.Dr.Nahide

KONU\*

Tromboz birçok kardiovasküler patolojide akut olayın tetiğini çeken suçlu olarak karşımıza çıkmaktadır. Meselâ atherosklerotik plakla daralmış bir koroner arterde bu lezyonun gelişmesi kronik bir süreçtir. Ama akut myokart infarktüsü gibi bir olayda; damar içinde, sıklıkla bu plağın bulunduğu yerde bir pıhtı vardır. Ve bu pıhtı akut olayın tetiğini çekmiş, lümeni tıkayarak ani bir doku iskemisine yol açmıştır. Bu nedenle doku ölümünü önlemek, en azından azaltmak için bu pıhtının eritilmesi gereklidir. İşte bu gereksinim, başka koroner arter tıkanması olmak üzere, derin ven trombozları, pulmoner emboliler, periferik arter tıkanmalarının bazılarında trombolitik tedaviyi gündeme getirmiştir. Bugüne kadar kullanılan klasik ajanlar; gerek fibrin spesifik olan t-PA ve scu-PA, gerekse fibrin spesifik olmayan APSAC (acylated plasminogen-streptokinase activator complex), streptokinaz ve ürokinaz ihtiyaca optimal cevabı vermemişlerdir. Halen bunlardan hiçbiri, ne litik etki ne de yan etkiler açısından diğerine belirgin üstünlük sağlayamamıştır. Bu nedenle ideal trombolitik -pıhtı emici- ajan arayışı sürmektedir.

Bu alandaki araştırmalar belli başlı şu hedefleri amaçlamaktadır: 1) Trombolitik etkiyi güçlendirmek, 2) Fibrin spesifik etkiyi artırmak, 3) Kanama olasılığını azaltmak. Böylece elde edilecek yeni ajanlardan beklenenler de; rekanalizasyona direnci azaltmak, trombolizisi hızlandırmak, reoklüzyondan kaçınmak ve kanama eğilimini azaltmaktır.

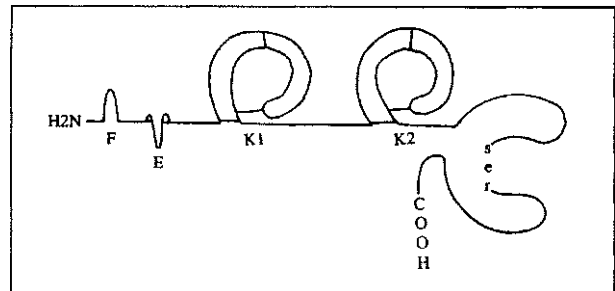
## Trombolitik Etkiyi Güçlendirmek ve Fibrin Spesifitesini Artırmak

Bu konudaki çalışmaların hedefleri şöyle özetlenebilir: 1) Rekombinan doku plazminojen aktivatörünün (rt-PA) mutantlarını üretmek, 2) Rekombinan, tek zincirli ürokinaz tip plazminojen aktivatör (rscu-PA) mutantlarını üretmek, 3) rt-PA ve scu-PA bileşimi "hibrid" ajanlarının yapılması, 4) Fibrine yönelik monoklonal antikorlarla plazminojen aktivatörlerinin birleştirilmesinden oluşan komplekslerin (1) oluşturulması.

## rt-PA Mutantları

Daha uzun yarı ömürlü, fibrine afinitesi daha fazla, fibrin spesifitesi yüksek ajanların geliştirilmesi amacıyla üç esas yaklaşım kullanılmaktadır. Bunlar; trombolitik molekülün spesifik amino asitlerinin mutasyonları, fonksiyonel bölgelerinin çıkarılmasıyla oluşan mutantlar ve glikozilasyonla ilgili değişiklik gösteren modellerin üretilmesi şeklinde yaklaşımlardır.

Larsen ve arkadaşları 3 tip farklı rekombinan rt-PA modeli ürettiler: 1) rt-PA-AF 2) rt-PA-AA veya her ikisinin beraber olduğu rt-PA-AFE mutanları (Şekil 1). Bunlar molekülün belli fonksiyonel bölgelerinin çıkarılması ile elde edilen kısmen değişmiş molekül yapısına sahip ajanlardır (2). Bunlardan birincisinin plazma klirensi 10 kat daha azalmıştır. Sonuç olarak trombolitik etki süresi artmıştır. Bazı karbonhidrat yan zincirlerinin değiştirilmesi veya çıkarılması ile elde edilen glikozilasyon varyantları; rt-PA-AFE 1X veya rt-PA-AFE3X da plazma yarı ömrü uzun ajanlardır. Kıyaslama gerekirse bu süre doğal t-PA için 4 dk. olup, rt-PA-AFE için 25 dk, rt-PA-AFE1X için 42 dk. ve rt-PA-AFE3X için 14 dk.dır (3). Bunların fibrin spesifiteleri doğal t-PA ile kıyaslanabilir düzeydedir. Fakat spesifik trombolitik akti-



Şekil 1. t-PA'nın yapısı. F: F domain, fibronectin-like finger domain. Bu bölge çıkarılırsa rt-PA-AF mutanları elde edilir. E domain molekülden çıkarılırsa rt-PA-AE mutanları, ikisi birden çıkarılırsa rt-PA-AFE mutanları elde edilir.

\* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbni Sina Hastanesi Hematoloji BD, ANKARA

vitelerinde belirgin derecede azalma olmuştur (Tavşan boyun ven trombozu modelinde). rt-PA-AFE3X köpeklerde doğal t-PA'ya nazaran daha güçlü bir trombolitik etki sağlamıştır (4). Bu tip bir etki başka bir çalışmada da gösterilmiştir (5). Yukarıdakilere benzeyen başka mutantlarda üretilmekle birlikte, şu ana kadar edinilen gözlemlere göre plazma klerensleri belirgin derecede azalmış olan bu maddelerin trombolitik aktiviteleri de azalmaktadır. Ve şimdilik doğal t-PA'dan daha güçlü bir trombolitik mutanlığı elde edilememiştir (1).

### **rscu-PA (Rekombinan Proürokinaz) Mutantları**

İki zincirli ürokinaz tip plazminojen aktivatörü (tcu-PA) ile kıyaslandığında fibrin spesifitesi daha yüksek bir ajandır. Bu nedenle rekombinan teknikle onun tcu-PA ya dönüşmesini önleyici teşebbüsler yapılmaktadır (6). Bu şekilde elde edilen plazmine dirençli mutantların trombolitik aktivitesinin yaklaşık 5 kat azaldığı görülmüştür.

scu-PA'nın insan hücre kültürlerinden veya rekombinan DNA tekniği ile elde edilen düşük molekül ağırlıklı bir türevi rscu-PA-32k, düşük molekül ağırlıklı tcu-PA ile kıyaslanabilir trombolitik güce sahiptir ve sistemik fibrinolitik aktiviteyi çok daha az orandadır. Bu nedenle rscu-PA-32k doğal karışımının (scu-PA) fonksiyonel özelliklerini taşımaktadır (Yüksek trombolitik etki) ve rekombinan formlarının büyük miktarlarda üretilmesi faydalı bir alternatif olacaktır.

### **Rekombinan t-PA ve scu-PA Karışımından Oluşan Maddeler (Rekombinan hibrid moleküller)**

t-PA ve scu-PA'nın rekombinan hibrid şekilleri (Rekombinant chimeras) nin yapılması iki esas gözleme dayanır: 1) t-PA'nın fibrine karşı olan affinitesinden sorumlu yapılar A zincirinde yer alır. 2) scu-PA'nın fibrin spesifitesi NH<sub>2</sub>-terminal 143 amino asite bağımlı olmayıp, eğer Lys<sup>158</sup> - Ile<sup>159</sup> peptid bağı sağlamasa bu özellik korunur.

t-PA'nın A zinciri ile scu-PA-32k'dan oluşan şimerik modeller her iki molekülün fibrin seçiciliğini kombine olarak içerebilir.

Böyle şimerik moleküller üretilmiş ve karakterize edilmiştir. Hayvan modellerinde bu moleküllerin scu-PA'yla kıyaslanabilir fakat ona üstün olmadığı gösterilmiştir (7). t-PA ve ürokinaz (u-PA)'nın çeşitli şimerik modelleri başka araştırmacılar tarafından da üretilmiştir ve kısmen karakterize edilmiştir. Bunların enzimatik etkileri devam etmektedir fakat fibrin affiniteleri doğal t-PA'dan azdır.

Sonuç olarak bu moleküllerin trombolitik aktivitelerinde önemli bir artış gözlenmemiştir. Doğal ajanların fibrin spesifitesi ve trombolitik etkisine üstün özellikleri yoktur.

Son zamanlarda araştırmacılar t-PA'nın 2 fonksiyonel bölgesini ve scu-PA'nın serin proteaz kısmını içeren bir molekül ürettirler (t-PA-AFE/scu-PA-e). Bu molekülün fibrin affinitesi az olup, invivo klerensi 10 kat azalmıştır (8). Bu nedenle trombolitik etkisi uzun sürelidir (hayvan modellerinde). Bu tip t-PA/u-PA şimerlerinin invitro özellikleri, farmakokinetikleri ve spesifik trombolitik etkileri arasında korelasyon eksikliği potansiyel klinik kullanımlarını henüz kısıtlamaktadır. Fakat böyle standart dışı yaklaşımlar trombolitik tedavinin düzeltilmesi için yoğun araştırmalara temel teşkil etmektedir.

### **Fibrine Spesifik Monoklonal Antikorlar ve Plazminogen Aktivatörlerinden Oluşan Kompleksler**

Fibrine spesifik olan ve fibrinojenle çapraz reaksiyonu olmayan monoklonal antikorlarla (MA) trombolitik ajanları birleştirmek yoluyla bu ajanları fibrin pıhtısına hedeflemek ya da yönlendirmek mümkündür. Bu amaçla fibrinin belli zincir bölümlerine yönelik MA'larla scu-PA veya tcu-PA'nın şimik bileşimleri üretilmiş ve trombolitik aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir (9,10). MA-15C5 bu şekilde üretilmiş bir scu-PA ve MA bileşimidir. Fibrinin D-dimer parçasına affinitesi fibrinojene nazaran 1000 kat fazladır. Bunun trombolitik aktivitesi de önemli derecede yüksek ve plazma klerensi daha yavaştır. Trombolitik ajanlardan beklenen niteliklere sahip görünmektedir.

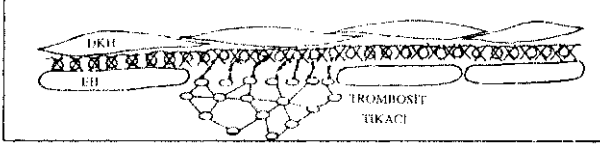
Tek zincirli t-PA ve fibrin spesifik bir MA'nın birleştirilmesiyle elde edilen bileşimin pıhtı eritici gücü invitro olarak t-PA'dan 3-4.5 kat, hayvan modellerinde ise 9.6 katına kadar çıkmaktadır. Bu arada fibrinolitik aktiviteye sebep olmadığı da gözlenmektedir.

Diğer bir yaklaşımda bifonksiyonel antikorların üretilmesidir. Fibrin spesifik bir MA ile t-PA spesifik bir MA birleştirilerek fibrin üzerinde t-PA'nın yoğunlaştırılması ve böylece pıhtıya spesifik, yoğun bir litik etki sağlanması mümkündür (11).

Özetlenecek olursa MA'ları kullanarak plazminojen aktivatörlerini pıhtıya hedeflemek ve pıhtı içinde yoğunluklarını arttırmak potansiyeli mevcuttur ve gelecek için ümit vericidir.

### **Trombositten Zengin Trombüs Oluşumunu Engelleme Çalışmaları**

Aterom plağının yırtılmasıyla oluşan lümen içindeki trombüs (Şekil 2) heterojen bir yapıya sahiptir. Yırtılan plak yüzeyine bitişik bölgede trombositten zengin bir pıhtı yer alır, bunun proksimal ve distalindeki pıhtı ise eritrositten zengindir (12). Bu bölgeler trombolizis için iki alternatif hedef oluşturur. Trombolitik ajanların tam kan pıhtısını eritme açısından potansiyeli ve sınırlamaları iyi bilinmektedir. Trombosit kümelerini dağıtma veya trombositten zengin pıhtıyı eritme potansiyelleri ise he-

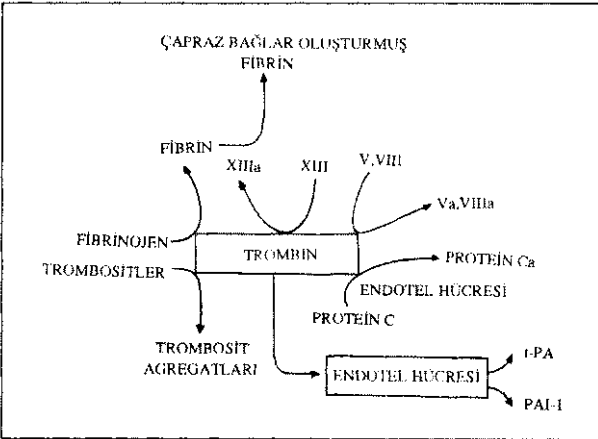


**Şekil 2.** Endovasküler bir hasar yerinde fibrin-trombosit tıkaçının oluşması. DKH: Düz Kas Hücresi, EH: Endotel Hücresi

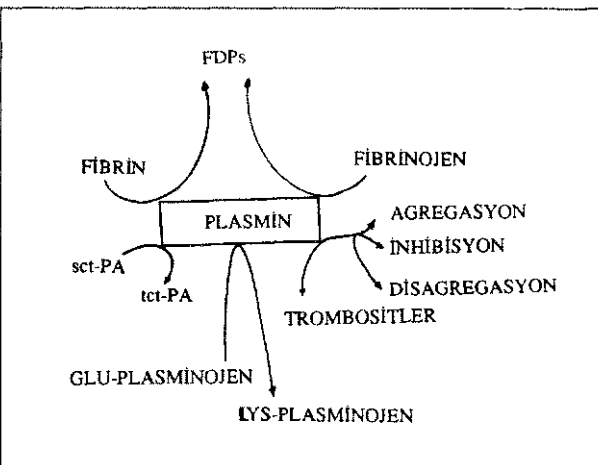
nüz çok iyi bilinmemektedir ve bu pıhtıların eritilmesi güçtür. Dahası bu ajanların infüzyonu prokoagulan ve proagregatuvar bir etki yaratmaktadır. Bunun delilleri kanda fibrinopeptit A oluşumu ve tromboksan **A2** yapımı ile gösterilmiştir.

Sonuç olarak başarılı bir trombolizisi takiben hem hasarlı damar duvarı hem de absorbe edilmiş olan trombinden zengin durumdaki artakalan trombüs, tekrarlayıcı tromboz için güçlü uyarılar oluştururlar (Şekil 3,4).

Koroner arter trombozundaki patogenezinin ne kadar karışık olduğu düşünülecek olursa; fibrinolitik sistemin kısa süreli aktivasyonu şeklindeki tek yönlü bir te-



**Şekil 3.** Hemostaz belirleyicileri üzerinde trombin etkileri.



**Şekil 4.** Plasminin hemostatik elemanlar üzerine etkileri.

davi yaklaşım olan trombolizisin maksimum ve devamlı bir rekanalizasyon sağlayamayacağı daha iyi anlaşılır.

Heparin ve aspirinin trombolizisi hızlandırma, tekrar tromboz oluşumunu önleme ve lizise direnci kırma konusundaki etkileri sınırlıdır. Beraber verildiklerinde dahi myokart infarktüsülü hastalarda maksimal ve stabil bir damar rekanalizasyonu sağlanamaz. Bu şaşırtıcı değildir. Çünkü aspirin hem antiagregan hem proagregan prostaglandinleri nonselektif bir şekilde inhibe eder. Heparin ise pıhtıdaki trombinin inhibe etme açısından nisbeten etkisizdir. Bu nedenle gelişmiş trombolitik tedavilerle, daha güçlü ve seçici antikoagulan ve antiagregan tedavileri beraber kullanma konusundaki araştırmalar devam etmektedir. Bu şekilde hem pıhtı seçici bir şekilde eritilecek, hem pıhtıdaki trombinin inhibe edilmesi mümkün olacak, hem de yeni trombositlerin o bölgede depolanması önlenecektir. Sonuçta damarın rekanalizasyonu, dokunun reperfüzyonu hızlanacak ve artacak, tromboz tekrarı önlenecektir.

### Antitrombosit Antikorlar ve Plasminogen Aktivatörlerini İçeren Kompleksler

Bode ve arkadaşları (13) kimyasal olarak t-PA ve trombosit membran glikoproteinlerinden GPIIb/IIIa ya seçici olarak bağlanan bir MA'u birleştirdiler. Bu bileşim hakikaten insan plazmasında trombositlerden zengin bir pıhtıya yönelerek belirgin bir trombolizis oluşturdu. Bazı deney hayvanlarında; yine scu-PA ile trombo-spondine veya glikoprotein GPIIb/IIIa üzerindeki bazı bağlanma yerlerine karşı oluşturulmuş MA'larm birleşiminden oluşan ajanların trombolitik etkisinin bir miktar arttığı gözlemlendi.

### Tekrarlayan Oklüzyon ve Pıhtının Lizise Direncinin Araştırıldığı Hayvan Modelleri

Araştırmacılar bu iki amaç için köpekte 2 koroner arter trombozu ve tavşanda da 2 femoral arter tromboz modeli geliştirdiler (1). 1. modelde köpekte sol anterior inen koroner arterde (SAİ) ileri aşamada darlık yaratan bir tam kan pıhtısı (TKP) ve tavşanda femoral arterde (FA) bir TKP vardı. Bunlar trombositlerden zengin materyalle tekrar tıkanmaya eğilimli olup rekanalizasyonu takiben yeniden tıkanma olayını incelemekte yararlı modellerdi, ikinci model trombositlerden zengin (TZ) bir arteriyel trombüstür. Bu trombüsler köpekte, ters çevrilmiş bir sirkumfleks arter segmenti (SAS) veya tavşanda yine ters çevrilmiş bir femoral arter (FAS) segmentinde spontan olarak ortaya çıktı. Bu modeller ise, TZ tıkaçıcı bir trombüsten rekanalizasyon çabalarına duyarlılığının araştırılmasına uygun modellerdir.

### Yeniden Tıkanma (Reoklüzyon)ın Önlenmesi

Köpektaki SAİ modelinde rt-PA ile trombolizisi takiben, ne fibrinogenin ileri derecede azalması ne de

tam doz heparinizasyon lümenin tekrar tıkanmasını önleyemedi. Fakat trombosit membranında bulunan GPIIb/IIIa karşı oluşmuş bir MA olan 7E3'nin F(ab')<sub>2</sub> parçasının yoğun bir şekilde infüzyonuyla reoklüzyon önledi ve rekanalizasyon hızlandı. 7E3-F(ab')<sub>2</sub> veya alternatif ajanlar GPIIb/IIIa reseptörü aracılığıyla gelişen trombosit aktivasyonunu önleyerek trombolitik tedaviye yardımcı ajanlar olarak ortaya çıkmaktadır. Fakat 7E3-F(ab')<sub>2</sub> nin yüksek dozda kullanılması köpekte kanama zamanını belirgin derecede uzattığından dikkatli doz-cevap çalışmalarını gerektirmektedir. Bu nedenle insandaki kullanımı henüz zamana muhtaçtır.

rt-PA ile trombolizis üzerinde sentetik bir trombin inhibitörü Argatroban'm etkileri de araştırıldı. Bu ajan trombinin yarışma yoluyla inhibe etmektedir. Köpektaki SAİ modeli ve tavşandaki FA modellerinde trombolizisden sonra damardaki yeni akımın (reflow) devamlılığı héparine nazaran belirgin derecede yüksekti. Argatroban ve rt-PA beraberliği heparin ve rt-PA kombinasyonuna nazaran template kanama zamanını daha çok uzattı. Fakat infüzyonun sonlanmasından bir saat sonra test normale döndü. Eğer uzun süreli deneylerde arter lümenin açıklığı stabil olarak devam ettirilebilirse, Argatroban ve rt-PA kombinasyonu gelecekteki, etkili, emniyetli, ıslah edilmiş farmakolojik bir rekanalizasyon için umutlandırıcıdır.

### Trombositter Zengin Bir Pıhtının Eritilmesi

Köpektaki SAS ve tavşandaki FAS modellerindeki trombositten zengin trombüsler hakikaten rt-PA ile dağılmaya dirençliyidiler. Köpektaki SAS modelinde güçlü bir antitrombosit ajan olan 7E3-F(ab')<sub>2</sub> in trombüsü dağıtma etkisi devamlı veya sabit değildi. Fakat infüzyon sürecinde rekanalizasyonu belirgin derecede artırdı. Hatta azaltılmış dozda rt-PA ile birlikte reoklüzyonu da ortadan kaldırdığı gözlemlendi. rt-PA ve 7E3-F(ab')<sub>2</sub> beraberliğinin, trombositten zengin pıhtıyı hangi mekanizmayla bu kadar güçlü olarak eritebildiği açık değildir. Çünkü, rt-PA'nın fibrini eritmesiyle, trombositleri birarada tutan bağların ortadan kalkması ve sonuçta trombositlerin de dağılması şeklinde açıklama yeterli değildir. Çünkü, bu durum tek başına rt-PA ile de gerçekleşebilecek bir tablodur. Belki yeni trombositlerin pıhtı yüzeyine birikmesi önlenerek; tromboz ve trombolizis arasındaki dinamik denge trombolizis lehine bozulmaktadır.

Argatroban fémorale arter greftlerindeki lümen açıklığını uzun süreli devam ettirerek, bu konuda da aynı dozlardaki héparine üstünlük sağlamıştır. Heparin bu dozlarda etkili bulunmamıştır. Argatroban hem standart antikoagülandan daha etkilidir, hem de damar duvarının "passivasyonu" (trombojenite kaybı) daha süratli ortaya çıkmaktadır.

Trombolizise eşlik eden prokoagülan aktiviteyi heparinden daha güçlü olarak inhibe edebildiği gösterilen

hirudin, hirugen, argatroban ve diğer küçük peptit inhibitörleri, aktif protein C, LACI (lipoprotein-associated coagulation inhibitor) gibi yeni antikoagülanlar klinik kullanıma henüz sunulmamıştır (14). Fakat invitro ve hayvan deneylerinde antitrombin etkilerinin heparinden daha güçlü olduğu, antitrombin III'den bağımsız çalışmaları, LACI gibi ajanların pıhtılaşmayı daha erken aşamalarda bloke ettiği, dahası kanama eğiliminin artmadığı gösterilmektedir. Trombolizi takiben oluşan reoklüzyonları da başarıyla önlemektedirler. Bu yeni ajanların insan serilerindeki sonuçları henüz ortaya çıkmamıştır. Ama preliminere sonuçlar parlak görünmektedir (14).

### Trombolizis Sırasında Ortaya Çıkan Kanama Sorununun Çözümü

Trombolitik tedavinin başlıca yan etkisi kanamadır. Sıklıkla ponksiyon yerleri ve invaziv girişim yerlerinde belirir. Serebral kanama gibi beklenmeyen kanama örnekleri de ortaya çıkabilir. Kanama sistemik fibrinolitik aktivasyonla ve fibrinojen yıkımının derecesiyle uyumlu değildir. Ayrıca hasta ile ilgili klinik parametrelerle de bağlantısı bulunamamıştır.

### Kanama Eğiliminin İndeksi Olarak Template Kanama Zamanının Kullanılması

Trombolitik tedaviye bağlı spontan kanamanın habercisi olarak ilk tanımlanan hemostatik parametre template kanama zamanıdır. Spesifitesi ve sensitivitesi %69'dur. rt-PA kullanılan ve spontan kanama geçiren hastalarda template kanama zamanının geçici olarak uzadığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada trombolitik tedaviyle birlikte aspirin alımı halinde spontan kanamanın arttığı da gösterilmiştir.

### Kanama Zamanını Düzeltme Çabaları

Tavşan ve köpeklerde de aspirin ve rt-PA'nın kanama zamanı ve kanama üzerindeki etkileri teyid edilmiştir. Tavşanlarda plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAİ-1) ve köpeklerde plazmin inhibitörü aprotinin kanama zamanını süratle normale döndürerek kesi yerindeki kanamayı durdurmuştur. Tavşanlarda aspirin ve rt-PA'nın yol açtığı kanama zamanındaki belirgin uzama DDAV (1-desamino-8-D-arginin vazopressin) ile de düzeltilebilir. Yine bunlarda aprotinin, rt-PA'nın yaptığı trombolizisi inhibe edebilir ve rt-PA'ya sekonder kanama zamanı uzamasını önleyebilir. Kanama zamanının neden uzadığı açıklanamamakla beraber, bu fenomenin reversibl oluşu, trombosit membran reseptörlerinin harabiyeti fikrine zıt bir gözlemdir. Bu fenomen plazmin aracılığıyla ortaya çıkan ve invitro trombosit agregasyonu ile gösterilemeyen bir trombosit fonksiyon bozukluğudur. Bu nedenle template kanama zamanı hemorajik diyatezin önceden tespitinde faydalı kantitatif bir indekstir ve trombolitik tedavi verilen hastalarda takip için yararlı olabilir.

Özetlenecek olursa; trombozun patogenezi ve trombüsün içeriği ne kadar kompleks ise, ortadan kaldırılması yani "Trombolizis" ve yanısıra getirdiği problemler de o kadar kompleks ve önemlidir. Lisiz için kullanılan ajanların daha etkin hale getirilmesi kadar, eşlik eden problemlerin çözülmesi de bu nedenle sorun

oluşturmaktadır. Lümenin yeniden açılma oranı ve bu açıklığın devamlılığı için, düzeltilmiş, belki de yepyeni trombolitik ajanlar ve çok güçlü antitrombosit, antikoagulan ajanlar gerekmektedir. Bu konuda araştırmalar sürmekte ve ümit verici sonuçlar elde edilecek gibi görünmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Collen D, Gold HK. Towards better thrombolytic Therapy Progress in cardiovascular disease. 1991; 34 (2): 101-12.
2. Larsen GR, Henson K, Blue Y. Variants of human tissue-type plasminogen activator. Fibrin binding fibrinolytic and fibrinogenolytic characterization of genetic variants lacking the fibronectin finger-like and/or the epidermal growth factor domains. J Biol Chem 1988; 263:1023-29.
3. Collen D, Stassen JM, Larsen G. Pharmacokinetics and thrombolytic properties of deletion mutants of human tissue-type plasminogen activator in rabbits. Blood 1988; 71:216-19.
4. Cambier P, Van de Werf F, Larsen GR, et al. Pharmacokinetics and thrombolytic properties of nonglycosylated mutant of human tissue-type plasminogen activator, lacking the finger and growth factor domains, in dogs with copper coil-induced coronary artery thrombosis. J Cardiovasc Pharmacol 1988; 11:468-72.
5. Wu Z, Van de Werf F, Stassen T, et al. Pharmacokinetics and coronary thrombolytic properties of two human tissue-type plasminogen activator variants lacking the finger-like, growth factor-like, and first kringle domains (amino acids 6-173) in a canine model. J Cardiovasc Pharmacol 1990; 16:197-203.
6. Nelles L, Lijnen HR, Collen D, et al. Characterization of recombinant human single chain urokinase-type plasminogen activator mutants produced by site-specific mutagenesis of lysine 158. J Biol Chem 1987; 262:5682-89.
7. Collen D, Stassen JM, Demarsin E, et al. Pharmacokinetics and thrombolytic properties of chimaeric plasminogen activators consisting of the NH2-terminal region of human tissue-type plasminogen activator and the COOH terminal region of human single chain urokinase-type plasminogen activator. J Vase. Med Biol 1989; 1:234-240.
8. Nelles L, Lijnen HR, Van Nuffelan A, et al. Characterization of domain deletion and/or duplication mutants of recombinant chimera of tissue-type plasminogen activator and urokinase-type plasminogen activator and urokinase-type plasminogen activator (rt-PA/u-PA). Thromb Haemost 1990; 64:53-60.
9. Bode C, Runge MS, Newell JB, et al. Characterization of an antibody-urokinase conjugate. A plasminogen activator targeted to fibrin. J Biol Chem 1987; 262:10819-23.
10. Bode C, Runge MS, Schoenermark S, et al. Conjugation to antifibrin Fab'enhances fibrinolytic potency of single chain urokinase-type plasminogen activator. Circulation 1990; 81:1974-80.
11. Bode C, Runge MS, Branscomb EE, et al. Antibody directed fibrinolysis. An antibody specific for both fibrin and tissue plasminogen activator. J Biol Chem 1989; 264:944-48.
12. Collen D, Gold HK. New Developments in Thrombolytic therapy. Fibrinogen, thrombosis, coagulation and fibrinolysis, edited by Liu CY and Chien S. New York: Plenum Press.
13. Bode C, Meinhardt G, Runge MS, et al. Conjugation of urokinase to an antiplatelet antibody results in a more potent fibrinolytic agent. Thromb Haemost 1989; 62:483.
14. Eisenberg Paul R. Role of new anticoagulants as adjunctive therapy during thrombolysis. Am J Cardiol 1991; 67:19A-24A.