

## Papel del PAI-1 en los procesos trombóticos

Josune Orbe, Ramón Montes y José A. Páramo

Laboratorio de Pared Vascular y Trombosis. Servicio de Hematología. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

El sistema fibrinolítico es un mecanismo de defensa natural del organismo que limita la formación del coágulo, asegurando así la fluidez circulatoria. Su activación se lleva a cabo por la acción coordinada de activadores e inhibidores, estando en equilibrio dinámico con el sistema de coagulación para asegurar la permeabilidad vascular. Hoy se sabe que este sistema interviene también en otros procesos en los que se produce proteólisis extravascular, por lo que desempeña un papel importante en la inflamación, crecimiento y diseminación tumoral y aterosclerosis<sup>1,2</sup>.

La reacción fundamental del sistema es la conversión del plasminógeno en plasmina por acción de los activadores del plasminógeno (PA), de los que el activador tisular del plasminógeno (t-PA) y los activadores tipo urocinasa (u-PA) son los de mayor interés fisiopatológico. La acción de estas serinproteasas está regulada por inhibidores específicos (PAI), de los que se conocen cuatro tipos inmunológicamente diferentes<sup>3</sup>. El PAI-1 o inhibidor de tipo endotelial se considera el más importante en la regulación de la fibrinólisis, al inhibir con gran potencia los activadores t-PA y u-PA (fig. 1).

El papel fisiopatológico del PAI-1 *in vivo* se ve avalado por diversos estudios que han demostrado que concentraciones elevadas de PAI-1 están asociadas con un mayor riesgo de trombosis, mientras que la disminución de su expresión se asocia con una tendencia hemorrágica<sup>3,4</sup>.

El objetivo de esta revisión es analizar las principales características de este inhibidor desde el punto de vista molecular y celular, para un mejor conocimiento de su papel fisiopatológico en la hemostasia, la trombosis y otros procesos patológicos de gran importancia clínica.

### Estructura del PAI-1

Entre 1983 y 1984, varios grupos describieron la existencia de un PAI en el plasma<sup>5-7</sup>, que fue también identificado y purificado a partir de cultivos de células endoteliales<sup>8</sup>, por lo que se denominó inicialmente inhibidor de tipo endotelial o PAI-1. En trabajos posteriores, se aisló el inhibidor a partir de plasma, megacariocitos y plaquetas, macrófagos, células del músculo liso, hepatocitos, placenta y diversas líneas celulares tumorales<sup>3,9,10</sup>.

El PAI-1 es una glucoproteína monocatenaria de 50 kD que contiene un péptido señal de 23 aminoácidos. La proteína madura consta de 379 aminoácidos, con tres posibles lugares de N-glicosilación, presentando una gran homología con otros inhibidores de serinproteasas (serpinas), lo que indica que todos ellos proceden de un gen ancestral común

que ha evolucionado desde hace aproximadamente 500 millones de años<sup>11,12</sup>. La estructura secundaria del PAI-1 consta de 6 hélices que se localizan en la región N-terminal, mientras que la estructura terciaria del PAI-1 se parece a la de otras serpinas, con el centro reactivo (Arg 346-Met 347) localizado en la región carboxiterminal con forma de lazo, constituyendo un sustrato o «cebo» ideal para la proteinasa (sustrato suicida)<sup>13,14</sup>.

### Conformación latente y activa

El PAI-1 presenta tres formas inmunológicas con distinta reactividad hacia los PA (fig. 2): la forma activa, que inhibe a los PA formando complejos inactivos, la forma latente o

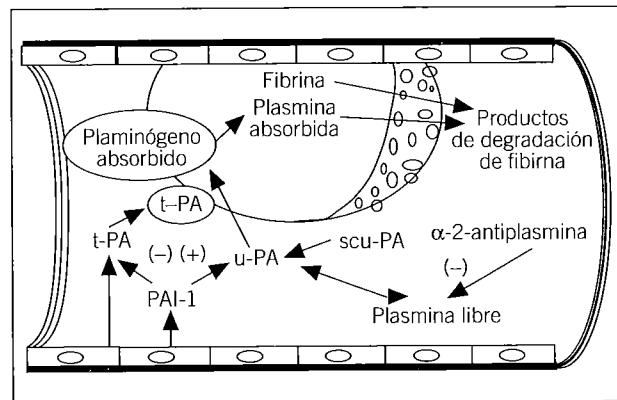


Fig. 1. Principales componentes del mecanismo fibrinolítico e implicación del endotelio en la fibrinólisis. t-PA: activador tisular del plasminógeno; u-PA: activador tipo urocinasa; scu-PA: prourocinasa; PAI-1: inhibidor específico de los activadores del plasminógeno.

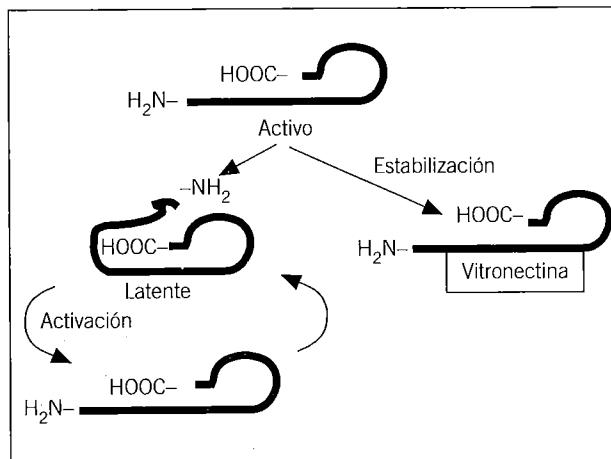


Fig. 2. Formas moleculares del inhibidor específico de los activadores del plasminógeno (PAI-1).

Correspondencia: Dr. J.A. Páramo.  
Servicio de Hematología. Clínica Universitaria.  
Avenida Pío XII, s/n. 31080 Pamplona.  
Correo electrónico: jparamo@unav.es

Manuscrito aceptado el 31-8-1998

Med Clin (Barc) 1999; 113: 63-69

## TABLA 1

**Situaciones clínicas en las que se ha observado aumento de PAI-1**

Trombosis venosa
Síndromes coronarios
Arteriopatía periférica
Inflamación y sepsis
Período postoperatorio
Síndrome hemolítico urémico
Embarazo y preeclampsia
Hipertrigliceridemia
Diabetes no insulinodependiente
Síndrome de resistencia insulínica
Neoplasias

inactiva, que puede ser reactivada parcialmente con agentes desnaturizantes como SDS, guanidina-HC y urea, e in vivo por fosfolípidos, y la forma sustrato o proteolíticamente degradada e inactiva que no puede ser reactivada. El PAI-1 es secretado por las células endoteliales en forma activa, y se convierte espontáneamente a la forma latente o inactiva, debido a un cambio conformacional en la estructura terciaria de la proteína que oculta el centro reactivo e impide la unión con las serinproteasas<sup>15,16</sup>.

Del total del PAI-1 antigénico, un 8% se encuentra en el plasma, principalmente en forma activa, y el 92% restante está almacenado en las plaquetas, donde se encuentra en forma latente. Se ha estimado que la concentración de PAI-1 plaquetar es del orden de 0,1-0,3 µg/10<sup>9</sup> plaquetas y que durante la agregación plaquetar se produce un perceptible aumento de las concentraciones de este inhibidor (2-5 veces la actividad funcional y 6-10 veces las concentraciones de PAI-1 antigénico). Las concentraciones plasmáticas de PAI-1 activo en los sujetos sanos varían entre 0-40 U/ml, mientras que las de PAI-1 antigénico oscilan entre 5-100 ng/ml, con valores medios de 20 ng/ml (aproximadamente 0,4 NM). Desde el punto de vista farmacocinético, los estudios realizados en los animales de experimentación demuestran que su vida media en el torrente circulatorio es de 6-10 min, siendo eliminado a través del hígado<sup>14</sup>.

*Interacción con la vitronectina*

La vitronectina es una glucoproteína con un peso molecular de 75 kD que se encuentra en el plasma como una proteína dimérica y se une al PAI-1, estabilizando la molécula en su forma activa, formando un complejo estequiométrico 1:1, lo que prolonga la vida media del PAI-1 unido a esta proteína transportadora 2-4 veces. Además, la vitronectina facilita la localización del PAI-1 activo en la matriz subendotelial extracelular, por lo que inhibe la fibrinólisis a nivel local, favoreciendo así mismo la inhibición de la trombina a dicho nivel<sup>17,18</sup>.

*Unión a la heparina y la fibrina*

La heparina potencia la inhibición de la trombina por el PAI-1. Se ha demostrado que, en presencia de heparina, la especificidad del PAI-1 por la trombina aumenta considerablemente<sup>19</sup>.

La interacción del PAI-1 con la fibrina es específica, reversible y saturable. Las plaquetas pueden desempeñar un papel en la interacción entre el PAI-1 y la fibrina, ya que se ha demostrado la presencia del PAI-1 no sólo en la superficie del coágulo, sino también en las plaquetas activadas que se extienden sobre la superficie de la fibrina<sup>20</sup>.

*Inactivación*

Diversos agentes pueden promover la inactivación del PAI-1. La liberación de oxidantes por diversas células puede conducir a la degradación local del inhibidor. También la proteína C es capaz de inactivar al PAI-1 como se ha demostrado *in vitro* en cultivos de células endoteliales. Así mismo, la trombina reduce la actividad del PAI-1 a nivel endotelial, aunque el significado fisiopatológico de esta observación aún no se ha establecido<sup>21,22</sup>.

*El gen del PAI-1**Estructura y expresión*

El gen del PAI-1, clonado en 1986 por distintos grupos investigadores<sup>11,12,23</sup>, se localiza en la región q21.3-q22 del cromosoma 7. Se conoce la secuencia completa del gen, con una longitud de 12,2 kb, organizado en 8 intrones y 9 exones. El análisis del ARN demuestra la existencia de dos especies de ARN mensajeros de 3,5 y 2,3 kb.

Se han descrito algunos polimorfismos en el gen del PAI-1, como el 4G/5G en la región promotora y el de restricción HindIII en el intrón 3, que pueden contribuir a una expresión anómala del PAI-1<sup>24</sup>. También se ha descrito una mutación en una familia con diátesis hemorrágica y ausencia del PAI-1 funcional y antigénico en el plasma y las plaquetas, debida a la inserción de 2 pb en el exón 4, que produce un desplazamiento del marco de lectura, un codón de terminación temprano y una proteína anómala y no funcional<sup>4</sup>.

*Regulación de la expresión*

El endotelio, el hígado y las plaquetas constituyen los principales lugares de síntesis y almacenamiento del PAI-1. Además, otros tipos celulares normales y tumorales (tejido adiposo, células de hepatocarcinoma, etc.) pueden desempeñar un papel importante en la síntesis de este inhibidor<sup>25</sup>. La expresión del PAI-1 puede ser modulada por diversos agentes, cuyo efecto sobre el gen del PAI-1 parece ser a nivel transcripcional. Se ha demostrado que existe un aumento de la expresión del gen del PAI-1 a nivel endotelial tras la estimulación con lipopolisacárido, citocinas (factor de necrosis tumoral [TNF] e interleucina 1 [IL-1]), factores de crecimiento, trombina, ésteres de forbol, lipoproteínas de baja densidad, lipoproteína(a), angiotensina II, hipertermia, proinsulina, altas concentraciones de glucosa y t-PA<sup>26-32</sup>. Sin embargo, se ha observado un descenso en la transcripción del gen del PAI-1 en las células endoteliales tras la estimulación con el factor de crecimiento de unión a la heparina (HBGF-1) y con gemfibrozilo, fármaco hipolipemiante<sup>33,34</sup>. Así mismo, nuestro grupo ha demostrado que la heparina no fraccionada y de bajo peso molecular induce un descenso en la expresión endotelial del gen del PAI-1, así como de su concentración proteica<sup>35,36</sup>.

En contraste a lo que sucede a nivel endotelial, la expresión del PAI-1 por hepatocitos humanos no se ve modulada por el TNF-α ni por la dexametasona, pero sí por la insulina y los derivados proinsulínicos<sup>37,38</sup>.

A nivel plaquetar, la regulación del PAI-1 tiene lugar por mecanismos no totalmente conocidos. Diversos agentes proagregantes como la trombina inducen liberación del PAI-1. Esta liberación desde los gránulos α podría estar mediada por el factor de crecimiento transformante (TGF-β), uno de los más potentes reguladores de la proliferación y migración celular<sup>39</sup>.

### *Localización tisular del gen del PAI-1*

Se ha demostrado un aumento de la expresión del PAI-1 a nivel tisular en los ratones tratados con lipopolisacárido, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  y dexametasona. Los órganos que presentaron mayor expresión del PAI-1 tras la estimulación con endotoxina fueron el riñón, el hígado y el pulmón, mientras que el tratamiento con TNF produjo un incremento en la expresión del PAI-1 principalmente en el tejido adiposo y el riñón<sup>39-41</sup>. Mediante hibridación in situ, se ha observado que las células endoteliales son las principales productoras de PAI-1 en áreas de hemorragia que se observan tras un rechazo agudo de trasplante renal<sup>42</sup>.

También se ha estudiado la expresión de este gen en las arterias ateroscleróticas, y se ha demostrado que se localiza en las proximidades de la placa de ateroma, hecho que podría contribuir al desarrollo de complicaciones trombóticas asociadas con la rotura de la placa<sup>43-47</sup>.

Recientemente, se ha demostrado la expresión del gen del PAI-1 in vivo en los hepatocitos y los megacariocitos, por lo que éstos constituirían así mismo una fuente importante de PAI-1 en el plasma<sup>48-51</sup>.

### **Funciones del PAI-1**

El PAI-1 es el principal inhibidor de los PA, por lo que va a desempeñar un papel fundamental en la regulación de la actividad fibrinolítica en la circulación sistémica. Reacciona con el t-PA mono y bicatenario, así como con los activadores de tipo u-PA, pero no con la prourocinasa ni con la estreptocinasa. La interacción tiene lugar a través de la formación de un complejo estequiométrico 1:1, que conlleva la interacción no covalente y electrostática entre el centro activo del t-PA y el centro reactivo del inhibidor, con liberación de un péptido intermedio, siendo la constante de inhibición  $10^7/M^{-1}/s^{-1}$ , es decir 10.000 veces mayor que la de los restantes inhibidores del t-PA<sup>52</sup>. Además, el PAI-1 puede unirse al t-PA ligado a la fibrina y a la urocinasa unida al receptor celular<sup>15</sup>.

Otra función fisiológica importante del PAI-1 va a ser estabilizar el tapón hemostático al prevenir la lisis prematura de la fibrina<sup>53</sup>. Además, la unión a la vitronectina convierte al PAI-1 en un agente inhibidor de la trombina, hecho que puede ser relevante desde el punto de vista fisiopatológico, si se tiene en cuenta que la vitronectina estabiliza el PAI-1 activo, tanto a nivel plasmático como en la matriz extracelular<sup>17</sup>.

Existen modificaciones de la concentración plasmática del PAI-1 en relación con el ritmo circadiano, con un aumento perceptible en las primeras horas de la mañana que coincide con un descenso de t-PA<sup>54</sup>.

Finalmente, existen evidencias de que el PAI-1 desempeña un papel importante en otros procesos biológicos, incluyendo ovulación, angiogénesis, migración celular y metástasis tumoral<sup>2</sup>.

### **Papel fisiopatológico del PAI-1**

La importancia fisiopatológica del PAI-1 se ve confirmada por el hecho de que los pacientes con escasa o nula actividad en el plasma presentan tendencia hemorrágica moderada o grave<sup>4</sup>, mientras que en situaciones clínicas asociadas con un elevado riesgo de trombosis, como sepsis, infarto de miocardio, cirugía o hipertrigliceridemia, y en procesos en los que tiene lugar una reacción de fase aguda, se han observado concentraciones de PAI-1 significativamente aumentadas<sup>55-57</sup> (tabla 1).

A nivel experimental, se ha demostrado que los ratones transgénicos que sobreexpresan PAI-1 desarrollan trombo-

sis venosa en las extremidades<sup>58</sup>. Por el contrario, en los ratones en los que se ha inactivado el gen del inhibidor se observó que su capacidad fibrinolítica estaba aumentada, lo que favorecía un estado hiperfibrinolítico con tendencia hemorrágica<sup>59</sup>. Todos estos hechos demuestran que el PAI-1 desempeña un papel fisiopatológico relevante al intervenir en la regulación del sistema fibrinolítico in vivo y, por consiguiente, alteraciones en su concentración plasmática o tisular pueden favorecer la aparición de trombosis o hemorragias.

### *PAI-1 y trombosis venosa*

Se ha sugerido que el aumento de la concentración de PAI-1 puede ser importante en el desarrollo de trombosis venosa (TVP) idiopática o recurrente, trombosis postoperatoria, inflamación, sepsis y en diversas situaciones clínicas caracterizadas por una incidencia elevada de fenómenos tromboembólicos.

*Trombosis venosa idiopática.* La mayoría de los estudios que han analizado el papel del PAI-1 en los pacientes con TVP idiopática o recurrente son retrospectivos y, por tanto, limitados en cuanto a su poder predictivo. En uno de los escasos estudios prospectivos, se compararon las concentraciones basales de t-PA y PAI-1 entre los varones que desarrollaron TVP o embolismo pulmonar y los controles, tras un período de seguimiento de 60 meses. No existieron diferencias entre los grupos en la determinación de ambos parámetros, indicando que el t-PA y el PAI-1 no son útiles en la predicción del riesgo trombótico en el territorio venoso<sup>60</sup>.

En cuanto a los estudios retrospectivos, se ha demostrado una alteración de la actividad fibrinolítica tras el episodio agudo en el 30% de los pacientes con TVP, que es debida en la mayoría de los casos a un aumento de PAI-1, si bien en algunos sujetos el mecanismo es doble: déficit de t-PA y aumento de PAI-1<sup>61,62</sup>. Sin embargo, otros autores no han podido encontrar diferencias en las concentraciones de PAI-1 entre los pacientes con flebografía positiva y aquellos sin signos radiológicos de trombosis<sup>63,64</sup>. Tampoco ha podido establecerse que el PAI-1 sea un marcador útil en la detección de estados trombofílicos en el territorio venoso<sup>65,66</sup>.

*Trombosis familiar.* Aunque no se han encontrado alteraciones genéticas que impliquen directamente a este inhibidor en la trombosis venosa familiar, se han descrito concentraciones elevadas de PAI-1 en varios miembros de familias con tendencia trombótica<sup>67</sup>. Sin embargo, no se conoce con certeza si la trombofilia familiar puede deberse a un aumento de PAI-1, ya que en algunos casos el análisis posterior demostró que existía una deficiencia total de proteína S funcional y libre, hecho que explicaba la incidencia de fenómenos trombóticos<sup>69</sup>.

Solamente en una de estas familias parecen existir datos convincentes de que el aumento de PAI-1 puede ser la causa de la trombosis<sup>69</sup>.

*Trombosis postoperatoria.* Existen evidencias de que el déficit de actividad fibrinolítica presente antes o tras la cirugía puede ser un factor que predispone a la aparición de TVP postoperatorias. En la actualidad, se asume que dicha alteración resulta de un balance inadecuado entre el t-PA y el PAI-1.

Diversos estudios han demostrado un descenso de la actividad fibrinolítica en el período postoperatorio de la cirugía general, urológica y ginecológica, y de la cirugía cardíaca con circulación extracorpórea<sup>70-72</sup>. Dicha reducción se ha

atribuido a un aumento de PAI-1 en el primer día del postoperatorio, coincidiendo con un descenso de t-PA, para normalizarse a los 3-5 días de la intervención. Sin embargo, algunos estudios que han administrado esteroides anabolizantes durante este período no han podido demostrar que la mejoría de la actividad fibrinolítica se correlacione con una disminución de la trombosis postoperatoria<sup>73</sup>. No obstante, se ha sugerido que el aumento preoperatorio de PAI-1 puede constituir un marcador predictivo de trombosis en los pacientes sometidos a cirugía ortopédica<sup>74,75</sup>.

**Sepsis.** La coagulación intravascular diseminada (CID) es una complicación frecuente en la sepsis, fundamentalmente en aquella causada por gérmenes gramnegativos. La endotoxina, un constituyente de la pared bacteriana de estos gérmenes, es la principal responsable, actuando bien directamente sobre el endotelio y los monocitos, o bien indirectamente a través de citocinas como el TNF y la IL-1<sup>76</sup>.

A nivel clínico, se han realizado estudios en voluntarios sanos a los que se administró endotoxina o TNF, y se ha observado un aumento estadísticamente significativo de PAI-1 a las 4 h de la administración<sup>77</sup>. De igual manera, en los pacientes con meningococemia y sepsis de etiología diversa se ha demostrado un perceptible aumento de la concentración de este inhibidor, e incluso se ha sugerido que el aumento de PAI-1 podría tener valor pronóstico en términos de mortalidad en estos pacientes<sup>78-81</sup>.

A nivel experimental, se ha demostrado que la reducción de la concentración de PAI-1, utilizando diversos agentes antiocoagulantes o fibrinolíticos, podría representar una alternativa en el tratamiento de la microtrombosis asociada a la infusión de lipopolisacárido<sup>82-85</sup>.

#### *PAI-1 y trombosis arterial*

Teóricamente, un defecto de la actividad fibrinolítica como consecuencia del aumento de PAI-1, tanto a nivel plasmático como vascular, podría predisponer a la trombosis arterial al promover la formación de un trombo oclusivo en la placa aterosclerótica. El exceso de PAI-1 en el plasma favorecería la formación de fibrina al inhibir la generación de plasmina circulante, mientras que el PAI-1 acumulado en la placa impediría la degradación proteolítica de la matriz extracelular y favorecería el depósito de fibrina a dicho nivel.

**Enfermedad arterial coronaria.** El PAI-1 parece tener un papel importante en la patogenia de los síndromes coronarios, la angina de pecho y el infarto agudo, y se ha asociado con diversos factores de riesgo clásicamente relacionados con la enfermedad coronaria.

**1. Angina de pecho.** Diversos estudios de tipo caso-control y transversales realizados en los pacientes con evidencia angiográfica de enfermedad coronaria han encontrado un aumento estadísticamente significativo de PAI-1, de forma aislada o asociado a otras alteraciones fibrinolíticas, tales como incremento de t-PA antigénico<sup>86-88</sup>.

La posible relación entre las alteraciones de la fibrinólisis y la gravedad de la lesión coronaria también ha sido objeto de varios estudios, con resultados contradictorios. Mientras que algunos estudios no encuentran asociación, otros indican que el aumento de PAI-1 es más evidente en los pacientes que presentan obstrucción de más de un vaso coronario, respecto a los que únicamente presentan una arteria obstruida<sup>89</sup>. El trabajo que incluyó un mayor número de pacientes fue el ECAT Angina Pectoris Study, en el que se analizaron diversos parámetros hemostáticos en más de 3.000 pacientes. Entre otras alteraciones, se constató un aumento significativo de las concentraciones basales de

PAI-1, hecho que fue independiente de la gravedad de la lesión coronaria<sup>90,91</sup>.

**2. Infarto agudo de miocardio (IAM).** Numerosos trabajos realizados durante la fase aguda y varios meses después del IAM han demostrado un aumento significativo de la concentración basal de PAI-1, tanto en los sujetos normolípémicos como en aquellos con hipertrigliceridemia<sup>92</sup>. Se han encontrado, así mismo, concentraciones más elevadas de PAI-1 en los pacientes diabéticos que desarrollaron IAM<sup>93</sup>. Aunque estos resultados no permiten confirmar si el aumento de PAI-1 tiene un papel patogénico o es solamente consecuencia de una reacción de fase aguda, el hecho de que las concentraciones del inhibidor se mantengan elevadas varios meses y años después del IAM indicaría que la inhibición de la fibrinólisis puede ser importante. En este sentido, se ha demostrado que el aumento de PAI-1 en los pacientes con IAM es inferior al observado en los sujetos con procesos capaces de inducir una reacción de fase aguda, por lo que ésta no puede considerarse como la causa principal de la elevación de PAI-1<sup>94</sup>.

**3. Recurrencia de IAM.** Se ha sugerido que un estado hipofibrinolítico relacionado con un aumento de PAI-1 podría constituir un factor de riesgo de recurrencia en los pacientes que han sufrido un IAM<sup>95,96</sup>. Un estudio pionero fue el realizado en 1987 por Hamsten et al<sup>95</sup> en los pacientes jóvenes que habían presentado un IAM, encontrando un aumento significativo de PAI-1 funcional en aquellos que presentaron recurrencia tras un seguimiento de 3 años desde el episodio agudo. Si bien la dislipoproteinemia, el grado de la estenosis coronaria y la fracción de eyeción ventricular también se correlacionaron con la aparición de reinfarto, el incremento de PAI-1 constituyó un factor de riesgo independiente<sup>95</sup>.

**4. Variación circadiana del PAI-1 e incidencia de enfermedad coronaria.** Un dato adicional sobre el papel del PAI-1 en el IAM proviene de los estudios que han analizado los cambios en el ritmo circadiano de los componentes fibrinolíticos. Estudios recientes han confirmado que el t-PA y, sobre todo, el PAI-1 son los principales responsables de estas oscilaciones. Ambos siguen un curso inverso, siendo el PAI-1 el que experimenta un perceptible incremento por la mañana, coincidiendo con la disminución de t-PA. Se ha sugerido que esta variación circadiana se mantiene en los pacientes con angina de pecho e IAM y que la caída fisiológica de la actividad fibrinolítica sanguínea que tiene lugar en las primeras horas de la mañana puede favorecer el desarrollo de trombosis, hecho que estaría de acuerdo con la mayor incidencia de IAM en ese momento del día<sup>97</sup>.

**5. Factores de riesgo de enfermedad coronaria.** Varios estudios han encontrado una correlación entre las concentraciones plasmáticas de PAI-1 y diversos factores clásicamente relacionados con la enfermedad cardiovascular, como el índice de masa corporal, la hipertrigliceridemia, la obesidad, la edad avanzada, la diabetes mellitus no insulinodependiente, las concentraciones de testosterona y la hipertensión arterial, caracterizados por un aumento del riesgo de enfermedad coronaria<sup>98-101</sup>. Estudios recientes han demostrado que el valor pronóstico del PAI-1 en la predicción de episodios coronarios estaría relacionado principalmente con la resistencia insulínica<sup>91</sup>.

Es interesante señalar que la reducción de las concentraciones de insulina y de la resistencia insulínica mediante ejercicio físico, pérdida de peso, hipolipemiantes y antidiabéticos orales es capaz de disminuir la actividad plasmática del PAI-1<sup>102-105</sup>.

**6. Angioplastia y cirugía de revascularización coronaria.** Se ha sugerido que un aumento de PAI-1 puede desempeñar un papel en la patogenia de la restenosis tras angioplastia transluminal percutánea, cuya incidencia oscila entre 15 y el 30%. En algunos estudios, se ha demostrado que la elevación del PAI-1 se asocia con estenosis tardía, presente varios meses después de realizado el procedimiento<sup>106</sup>.

También se ha observado una asociación entre la alteración preoperatoria de la fibrinólisis, relacionada con un aumento de PAI-1, con la oclusión temprana de los injertos en los pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria<sup>107</sup>.

#### *Polimorfismo genético del PAI-1 y riesgo cardiovascular*

El análisis de polimorfismos en el gen del PAI-1 indica que una alteración genética puede contribuir a un aumento de las concentraciones plasmáticas de este inhibidor. Se ha identificado un polimorfismo inserción/deleción de un par de bases en la región promotora del gen del PAI-1. Los sujetos con el alelo 4G (deleción de una guanina) presentan concentraciones más elevadas de PAI-1. Esta alteración estaba, así mismo, presente en una serie de pacientes que habían presentado IAM. Los resultados indican que los individuos homozigotos para el alelo 4G (4G/4G) tienen un mayor riesgo de trombosis coronaria en respuesta a diversos estímulos<sup>108,109</sup>. Sin embargo, no todos los estudios coinciden en señalar la importancia del polimorfismo de forma aislada, sino asociado a otros factores genéticos o ambientales<sup>110</sup>.

#### *Otras situaciones clínicas que cursan con aumento de PAI-1*

Durante el embarazo, se produce un aumento muy significativo de las concentraciones de este inhibidor, con valores máximos durante el tercer trimestre, si bien el significado fisiopatológico de esta observación no se conoce claramente. También se ha encontrado un aumento de PAI-1 en la pre-eclampsia grave, y se ha observado una correlación positiva con la lesión placentaria<sup>111,112</sup>.

En el síndrome hemolítico urémico, se ha observado un importante aumento de PAI-1 que podría contribuir a la presencia de depósitos de fibrina en la microcirculación<sup>113</sup>.

#### *Papel del PAI-1 en los procesos de remodelado tisular/fibrosis*

Cada vez son más numerosas las evidencias implicando al sistema fibrinolítico en los procesos de remodelado vascular que acontecen como respuesta a distintos tipos de lesión.

Estudios experimentales en los animales en los que se produce una lesión mecánica o sometidos a irradiación para inducir una lesión vascular demuestran un aumento de la expresión de PAI-1 en la íntima. En otro modelo experimental en los ratones en los que se indujo fibrosis pulmonar tras administración de bleomicina, se constató un aumento de la expresión de PAI-1 que se correlacionó con el grado de fibrosis. Por el contrario, estudios en los animales en los que se inactivó el gen del PAI-1 demuestran una disminución de la fibrogénesis y una aceleración de la formación de la neointima. Estos datos indican que el PAI-1, además de tener un papel importante en la trombosis, podría favorecer la acumulación de matriz extracelular que se produce tras una lesión vascular<sup>114,115</sup>.

#### **Conclusión**

El PAI-1 es una glucoproteína de la familia de las serpinas, sometida a estricta regulación a nivel celular, por la acción de citocinas, hormonas y diversos factores de crecimiento, que desempeña un papel clave en la regulación de la fibrinólisis al ser el principal inhibidor de los PA.

Diversas evidencias clínicas y experimentales indican que un aumento del PAI-1, tanto en la circulación como a nivel local, puede contribuir al desarrollo de trombosis e intervenir, así mismo, en diversos procesos de gran relevancia clínica en los que se produce proteólisis extracelular. Estudios en curso permitirán establecer con precisión si la reducción de las concentraciones de este inhibidor puede representar una alternativa terapéutica a considerar en los pacientes con trombosis y aumento de PAI-1.

#### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Collen D, Lijnen HR. Basic and clinical aspects of fibrinolysis and thrombosis. *Blood* 1991; 78: 3.114-3.124.
- Vassalli JD, Sappino JD, Belin D. The plasminogen activator/plasmin system. *J Clin Invest* 1991; 88: 1.067-1.072.
- Sprengers ED, Kluit C. Plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987; 69: 381-387.
- Fay WP, Shapiro AD, Shih JL, Schleef RD, Ginsburg D. Brief report: complete deficiency of plasminogen-activator inhibitor type 1 due to a frame-shift mutation. *N Engl J Med* 1992; 327: 1.719-1.733.
- Chmielewska J, Ranby M, Wiman B. Evidence for a rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. *Thromb Res* 1983; 31: 427-436.
- Verheijen JH, Chang GIC, Kluit C. Evidence for the occurrence of a fast acting inhibitor for tissue-type plasminogen activator in human plasma. *Thromb Haemost* 1984; 51: 392-395.
- Kruithof EK, Tran-Thang C, Ransijn A, Bachmann F. Demonstration of a fast acting inhibitor of plasminogen activators in human plasma. *Blood* 1984; 64: 907-913.
- Van Mourik JA, Lawrence DA, Loskutoff DJ. Purification of an inhibitor of plasminogen activator (anti-activator) synthesized by endothelial cells. *J Biol Chem* 1984; 259:14.914-14.921.
- Arndt A, Murphy P, Hart AJ. Human HuH-7 hepatoma cells express urokinase and plasminogen activator inhibitor-1: identification, characterization and regulation by inflammatory mediators. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1.138: 149-156.
- Chapman HA, Yang X, Sailor LZ, Sugarbaker DJ. Developmental expression of plasminogen activator inhibitor type 1 by human alveolar macrophages. *J Immunol* 1990; 145: 3.398-3.405.
- Pannekoek HJ, Veerman H, Lambers H, Diergaarde P, Verweij CL, Van Zonneveld AJ et al. Endothelial plasminogen activator inhibitor (PAI): a new member of the serpin gene family. *EMBO J* 1986; 5: 2.539-2.544.
- Ginsburg D, Zeheb R, Yang AY, Rafferty UM, Andreassen PA, Nielsen L et al. cDNA cloning of human plasminogen activator-inhibitor from endothelial cells. *J Clin Invest* 1986; 78: 1.670-1.673.
- Mottonen J, Strand A, Symerly J, Sweet RM, Danley DE, Geoghegan KF et al. Structural basis of latency in plasminogen activator inhibitor-1. *Nature (Lond)* 1992; 355: 270-273.
- Van Meijer M, Pannekoek H. Structure of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) and its function in fibrinolysis: an update. *Fibrinolysis* 1995; 9: 263-276.
- Lindahl TL, Sigurdardottir O, Wiman B. Stability of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1). *Thromb Haemost* 1989; 62: 748-751.
- Sancho E, Declerck PJ, Price NC, Kelly SM, Booth NA. Conformational studies on plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in active, latent, substrate and cleaved forms. *Biochemistry* 1995; 34: 1.064-1.069.
- Preissner KT. Structure and biological role of vitronectin [revisión]. *Annu Rev Cell Biol* 1991; 7: 275-310.
- Ehrlich HJ, Klein Gebbink R, Preissner KT, Keijer J, Esmon NL, Mertens K et al. Thrombin neutralizes plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) that is complexed with vitronectin in the endothelial cell in matrix. *J Cell Biol* 1991; 115: 1.773-1.781.
- Ehrlich HJ, Klein Gebbink R, Keijer J, Pannekoek H. Elucidation of structural requirements on plasminogen activator inhibitor 1 for binding to heparin. *J Biol Chem* 1992; 267: 11.606-11.611.
- Keijer J, Linders M, Van Zonneveld AJ, Ehrlich HJ, De Boer JP, Pannekoek H. The interaction of plasminogen activator inhibitor 1 with plasminogen activators (tissue-type and urokinase-type) and fibrin: localization of interaction sites and physiologic relevance. *Blood* 1991; 78: 401-409.
- Lawrence D, Loskutoff DJ. Inactivation of plasminogen activator inhibitor by oxidants. *Biochemistry* 1986; 25: 6.351-6.355.
- Sakata Y, Loskutoff DJ, Gladstone CL, Hekman CM, Griffin JH. Mechanism of protein C-dependent clot lysis: role of plasminogen activator inhibitor. *Blood* 1986; 68: 1.218-1.223.

23. Ny T, Sawdey M, Lawrence D, Millan JL, Loskutoff DJ. Cloning and sequence of a cDNA coding for the human  $\beta$ -migrating endothelial-cell-type plasminogen activator inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 6.776-6.780.
24. Henry M, Chomiki N, Scarabin PY, Alessi MC, Peiretti F, Arvelier D et al. Five frequent polymorphisms of the PIA-1 gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 851-858.
25. Samad F, Yamamoto K, Loskutoff DJ. Distribution and regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in murine adipose tissue in vivo. Induction by tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide. *J Clin Invest* 1995; 96: 1.621-1.630.
26. Van den Berg EA, Sprengers ED, Jaye M, Burgess W, Maciag T, Van Hinsbergh VWM. Regulation of plasminogen activator inhibitor-1 mRNA in human endothelial cells. *Thromb Haemost* 1988; 60: 63-67.
27. Van Hinsbergh VWM, Kooistra T, Van den Berg EA, Princen HMG, Fiers W, Emeis JJ. Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and in rats in vivo. *Blood* 1988; 72: 1.467-1.473.
28. Sawdey M, Podor TJ, Loskutoff DJ. Regulation of type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in cultured bovine aortic endothelial cells. *J Biol Chem* 1989; 264: 10.396-10.401.
29. Etingin OR, Hajjar DP, Hajjar KA, Harpel PC, Nachman RL. Lipoprotein(a) regulates plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells. *J Biol Chem* 1991; 266: 2.459-2.465.
30. Schneider DJ, Nordt TK, Sobel BE. Stimulation by proinsulin of expression of plasminogen activator inhibitor type-1 in endothelial cells. *Diabetes* 1992; 41: 890-895.
31. Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor-1 in microvascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 181: 902-906.
32. Fujii S, Lucore CL, Hopkins WE, Billadello JJ, Sobel BE. Induction of synthesis of plasminogen activator inhibitor type-1 by tissue-type plasminogen activator in human hepatic and endothelial cells. *Thromb Haemost* 1990; 64: 412-419.
33. Konkle BA, Kollros PR, Kelly MD. Heparin-binding growth factor-1 modulation of plasminogen activator inhibitor-1 expression. *J Biol Chem* 1990; 265: 21.867-21.873.
34. Fujii S, Sawa H, Sobel BE. Inhibition of endothelial cell expression of plasminogen activator inhibitor type-1 by Gemfibrozil. *Thromb Haemost* 1993; 70: 642-647.
35. Orbe J, Montes R, Zabalegui N, Hermida J, Páramo JA, Rocha E. Effect of heparin and hirudin on PAI-1 expression by human umbilical vein endothelial cells [resumen]. *Haemostasis* 1996; 26 (Supl 3): 261.
36. Chordá C, Páramo JA, Rocha E. Comparison of the effect of unfractionated heparin, low molecular weight heparin and hirudin (RevascTM) on the fibrinolytic potential of cultured human umbilical vein endothelial cells. *Fibrinolysis* 1996; 10: 43-48.
37. Konkle BA, Schuster SJ, Kelly MD, Harjes K, Hasset DE, Bohrer M et al. Plasminogen activator inhibitor-1 messenger RNA expression is induced in rat hepatocytes in vivo by dexamethasone. *Blood* 1992; 79: 2.636-2.642.
38. Fattal PG, Schneider DJ, Sobel BE, Billadello JJ. Post-transcriptional regulation of expression of plasminogen activator inhibitor type 1 mRNA by insulin and insulin-like growth factor 1. *J Biol Chem* 1992; 267: 12.412-12.415.
39. Loskutoff DJ, Sawdey M, Keeton M, Schneiderman J. Regulation of PAI-1 gene expression in vivo. *Thromb Haemost* 1993; 70: 135-137.
40. Quax PHA, Van den Hoogen M, Verheijen JA, Padro T, Zeheb R, Gelehrter TD et al. Endotoxin induction of plasminogen activator inhibitor type 1 mRNA in rat tissues in vivo. *J Biol Chem* 1990; 265: 15.560-15.563.
41. Keeton M, Eguchi Y, Sawdey M, Ahn C, Loskutoff DJ. Cellular localization of type 1 plasminogen activator inhibitor messenger RNA and protein murine renal tissue. *Am J Pathol* 1993; 142: 59-70.
42. Wang Y, Thompson EM, Whowell SA, Fleming K. Expression and localization of plasminogen activator inhibitor 1 mRNA in transplant kidneys. *J Pathol* 1993; 169: 445-450.
43. Schneiderman J, Sawdey MS, Keeton MR, Bordin GM, Bernstein EF, Dilley RB et al. Increased type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in atherosclerotic human arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 6.998-7.002.
44. Chomiki N, Henry N, Alessi MC, Anfosso F, Juhan-Vague I. Plasminogen activator inhibitor-1 expression in human liver and healthy or atherosclerotic vessel walls. *Thromb Haemost* 1994; 72: 44-53.
45. Lupu F, Bergonzelli GE, Heim DA, Cousin E, Genton CY, Bachmann F et al. Localization and production of plasminogen activator inhibitor-1 in human healthy and atherosclerotic arteries. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1.090-1.100.
46. Arnman V, Nilsson A, Sternme S, Risberg B, Ryynä L. Expression of plasminogen activator inhibitor 1 mRNA in healthy atherosclerotic and thrombotic human arteries and veins. *Thromb Res* 1994; 76: 487-499.
47. Grancha S, Estellés A, Falcó C, Chirivella M, España F, Aznar J. Detailed localization of type-1 plasminogen activator inhibitor mRNA expression and antigen in atherosclerotic plaque on human coronary artery. *Fibrinol Proteol* 1998; 12: 53-60.
48. Thronton AJ, Gelehrter TD. Human hepatocytes express the gene for type 1 plasminogen activator-inhibitor (PAI-1) in vivo. *Fibrinolysis* 1995; 9: 9-15.
49. Schneiderman J, Sawdey M, Craig H, Thinnis T, Bordin G, Loskutoff DJ. Type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression following partial hepatectomy. *Am J Pathol* 1993; 143: 753-762.
50. Booth NA, Simpson AJ, Croll A, Bennet B, McGregor IR. Plasminogen activator inhibitor (PAI-1 in plasma and platelets). *Br J Haematol* 1988; 70: 327-333.
51. Alessi MC, Chomiki N, Berthier R, Schweitzer A, Fossat C, Juhan-Vague I. Detection of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) mRNA in human megakaryocytes by in situ hybridization. *Thromb Haemost* 1994; 72: 931-936.
52. Colucci M, Páramo JA, Collen D. Inhibition of one-chain and two-chain forms of human tissue-type plasminogen activator by fast-acting inhibitor of plasminogen activator in vitro and in vivo. *J Lab Clin Med* 1986; 108: 53-59.
53. Braaten JV, Jerome HWG, Kirkpatrick J, Lewis JC, Hantgan RR. Regulation of fibrinolysis by platelet-released plasminogen activator inhibitor-1: light scattering and ultrastructural examination of lysis of a model of platelet-fibrin thrombus. *Blood* 1993; 81: 1.290-1.299.
54. Páramo JA, Rocha E. Ritmo circadiano de los componentes fibrinolíticos sanguíneos. *Rev Iberoam Thromb Hemost* 1994; 7: 232-236.
55. Rocha E, Páramo JA. Fibrinolysis y trombosis. En: Castillo J, Martínez-Vila E, editores. *Trombosis, fármacos antitrombóticos y enfermedad cerebrovascular*. Barcelona: Ediciones J. Uriach, 1995; 115-141.
56. Aznar J, Estellés A. Role of plasminogen activator inhibitor type 1 in the pathogenesis of coronary artery disease. *Haemostasis* 1994; 24: 243-251.
57. Rocha E, Páramo JA. The relationship between impaired fibrinolysis and coronary heart disease: a role for PAI-1. *Fibrinolysis* 1994; 8: 294-303.
58. Erickson LA, Fici GJ, Lund JE, Boyle TP, Polites HG, Marotti KR. Development of venous occlusion in mice transgenic for plasminogen activator inhibitor gene. *Nature (Lond)* 1990; 346: 74-76.
59. Carmeliet P, Stassen JM, Schoonjans L, Ream B, Van den Oord JJ, De Mol M et al. Plasminogen activator inhibitor-1-gene-deficient mice. II. Effects on haemostasis, thrombosis, and thrombolysis. *J Clin Invest* 1993; 92: 2.756-2.760.
60. Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Shen C, Newcomer LM et al. Baseline fibrinolytic state and the risk of future venous thrombosis. A prospective study of endogenous tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor. *Circulation* 1992; 85: 1.822-1.827.
61. Nilsson JM, Ljunger H, Tenbgorn L. Two different mechanisms in patients with venous thrombosis and defective fibrinolysis: low concentration of plasminogen activator or increased concentrations of plasminogen activator inhibitor. *Br Med J* 1985; 290: 1.453-1.456.
62. Osterman H, Koenig S, Kienast J, Schmitz-Huebner U. Increased plasminogen activator inhibitor in patients with idiopathic deep venous thrombosis. *Fibrinolysis* 1988; 2: 88-89.
63. Páramo JA, De Boer AC, Colucci M, Jonker JJC, Collen D. Plasminogen activator inhibitor (PA-inhibitor) activity in the blood of patients with deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1985; 54: 725.
64. Juhan-Vague I, Alessi MC, Fossat C, Valadier J, Aillaud MF, Serradigni A. Clinical relevance of reduced t-PA release and elevated PA inhibitor levels in patients with spontaneous or recurrent deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1987; 57: 67-72.
65. Falkon L, Borrel M, Sala N, Félez J, Martín S, Grau E et al. Fibrinolytic abnormalities. A Spanish multicenter study on 443 patients with venous thromboembolic disease. *Thromb Res* 1992; 66: 455-460.
66. Tabernero MD, Estellés A, Vicente V, Alberca I, Aznar J. Incidence of increased plasminogen activator inhibitor in patients with deep venous thrombosis and/or pulmonary embolism. *Thromb Res* 1989; 56: 565-570.
67. Engesser L, Brommer EJP, Kluit C, Briet E. Elevated plasminogen activator inhibition (PAI), a cause of thrombophilia? A study in 203 patients with familiar or sporadic venous thrombophilia. *Thromb Res* 1989; 62: 673-680.
68. Bolan CD, Krishnamurti C, Tang DB, Carrington LR, Alving BM. Association of protein S deficiency with thrombosis in a kindred with increased levels of plasminogen activator inhibitor-1. *Ann Intern Med* 1993; 119: 779-785.
69. Jorgensen M, Bonnevie-Nielsen V. Increased concentration of the fast-acting plasminogen activator inhibitor in plasma associated with familial venous thrombosis. *Br J Haematol* 1987; 65: 175-180.
70. Kluit C, Verheijen JH, Jie AF, Rijken DC, Preston FE, Sue-Ling HM et al. The postoperative fibrinolytic shutdown: a rapidly reverting acute phase pattern for the fast acting inhibitor of tissue type plasminogen activator after trauma. *Scand J Clin Invest* 1985; 45: 605-610.
71. D'Angelo A, Kluit C, Verheijen JH, Rijken DC, Mozzie E, Mannucci PM. Fibrinolytic shutdown after surgery: impairment of the balance between tissue-type plasminogen activator and its specific inhibitor. *Eur J Clin Invest* 1985; 15: 308-312.
72. Páramo JA, Alfaro MJ, Rocha E. Postoperative changes in the plasma levels of tissue-type plasminogen activator and its fast-acting inhibi-

- tor. Relationship to deep vein thrombosis and influence of prophylaxis. *Thromb Haemost* 1985; 54: 713-716.
73. Sue-Ling HM, Davies JA, Prentice CRM, Verheijen JH, Kluft C. Effects of oral stanozolol used in the prevention of postoperative deep vein thrombosis on fibrinolytic activity. *Thromb Haemost* 1985; 53: 141-142.
  74. Rocha E, Alfaro MJ, Páramo JA, Cañadell J. Preoperative identification of patients at high risk of deep vein thrombosis despite prophylaxis in total hip replacement. *Thromb Haemost* 1988; 59: 93-95.
  75. Eriksson Bl, Eriksson E, Gyzander E, Teger-Nilsson AC, Risberg B. Thrombosis after total hip replacement. Relationship to the fibrinolytic system. *Acta Orthop Scand* 1989; 60: 159-163.
  76. Páramo JA, Rocha E. Nuevos conceptos sobre el papel de la hemostasia en la patogenia y tratamiento de la sepsis. *Med Clin (Barc)* 1994; 103: 260-263.
  77. Suffredini AF, Harpel PC, Parrillo JE. Promotion and subsequent inhibition of plasminogen activation after administration of intravenous endotoxin to normal subjects. *N Engl J Med* 1989; 320: 1.165-1.172.
  78. Páramo JA, Pérez JL, Serrano M, Rocha E. Types 1 and 2 plasminogen activator inhibitor and tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis. *Thromb Haemost* 1990; 64: 3-6.
  79. Pralong G, Calandra T, Gläuser MP, Schellekens J, Verhoef J, Bachmann F et al. Plasminogen activator inhibitor 1: a new prognostic marker in septic shock. *Thromb Haemost* 1989; 61: 459-462.
  80. Llorente JA, García-Frade LJ, Landín L, De Pablo R, Torrado C, Renes E et al. Time course of hemostatic abnormalities in sepsis and its relation to outcome. *Chest* 1993; 103: 1.536-1.542.
  81. Vicente V, Estellés A, Moraleda JM, España F, Aznar J. Fibrinolytic changes during acute vascular damage induced by mediterranean spotted fever. *Fibrinolysis* 1993; 7: 324-329.
  82. Gómez C, Páramo JA, Colucci M, Rocha E. Effect of heparin and/or antithrombin III on the generation of endotoxin-induced plasminogen activator inhibitor. *Thromb Haemost* 1989; 62: 694-698.
  83. Paloma MJ, Páramo JA, Rocha E. Effect of DDAVP on endotoxin-induced intravascular coagulation in rabbits. *Thromb Haemost* 1992; 68: 306-309.
  84. Paloma MJ, Páramo JA, Rocha E. Endotoxin-induced intravascular coagulation in rabbits: Effect of tissue plasminogen activator vs urokinase on PAI-1 generation, fibrin deposits and mortality. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1.578-1.582.
  85. Hermida J, Montes R, Páramo JA, Rocha E. Endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rabbits: effect of recombinant hirudin on hemostatic parameters, fibrin deposits and mortality. *J Lab Clin Med* 1998; 131: 77-83.
  86. Páramo JA, Colucci M, Collen D, Van der Werf F. Plasminogen activator inhibitor in the blood of patients with coronary disease. *Br Med J* 1985; 291: 573-574.
  87. Aznar J, Estellés A, Tormo G, Sapena P, Tormo V, Blanch S et al. Plasminogen activator inhibitor activity and other fibrinolytic variables in patients with coronary artery disease. *Br Heart J* 1988; 59: 535-541.
  88. Oloffson BO, Dahlén G, Nilsson TK. Evidence for increased levels of plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator of patients with angiographically verified coronary artery disease. *Eur Heart J* 1989; 10: 77-82.
  89. Hamsten A, Ericksson P. Fibrinolysis and atherosclerosis: an update. *Fibrinolysis* 1994; 8 (Supl 1): 253-262.
  90. ECAT Angina Pectoris Study Group. ECAT angina pectoris study: baseline associations of haemostatic factors with extent of coronary arteriosclerosis and other coronary risk factors in 3,000 patients with angina pectoris undergoing coronary angiography. *Eur Heart J* 1993; 14: 8-17.
  91. Juhan-Vague I, Pyke SDM, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG, on behalf of the ECAT Study Group. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *Circulation* 1996; 94: 2.057-2.063.
  92. Hamsten A, Wiman B, De Faire U, Blomback M. Increased plasma levels of rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1985; 313: 1.557-1.563.
  93. Gray R, Yudkin JS, Patterson DLH. Plasminogen activator inhibitor- a risk factor for myocardial infarction in diabetic subjects. *Br Heart J* 1993; 69: 228-232.
  94. Chandler WL, Stratton JR. Laboratory evaluation of fibrinolysis in patients with a history of myocardial infarction. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 248-252.
  95. Hamsten A, De Faire U, Walldius G, Dahlén G, Szamosi A, Landou C et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987; 2: 3-9.
  96. Hamster A. The hemostatic system and coronary heart disease. *Thromb Res* 1993; 70: 1-38.
  97. Andreotti F, Davies GJ, Hackett DR, Khan MI, De Bart AC, Aber VR et al. Major circadian fluctuations in fibrinolytic factors and possible relevance to time of onset of myocardial infarction, sudden cardiac death and stroke. *Am J Cardiol* 1988; 62: 635-637.
  98. Juhan-Vague I, Alessi MC. Plasminogen activator inhibitor 1 and atherosclerosis. *Thromb Haemost* 1993; 70: 138-143.
  99. Juhan-Vague I, Vague P, Alessi MC, Badier C, Valadier J, Aillaud MF. Relationship between plasma insulin, triglyceride, body mass index and plasminogen activator inhibitor 1. *Diabetes Metabol* 1987; 13: 331-336.
  100. Porter van Loon BJ, Kluft C, Radder JK, Blankenstein MA, Meinders AE. The cardiovascular risk factor plasminogen activator inhibitor type 1 is related to insulin resistance. *Metabolism* 1993; 42: 945-949.
  101. Juhan-Vague I, Alessi MC. PAI-1, obesity, insulin resistance and risk of cardiovascular events. *Thromb Haemost* 1997; 78: 656-660.
  102. Vague P, Juhan-Vague I, Alessi MC, Badier C, Valadier J. Metformin decreases the high plasminogen activator inhibitor capacity, plasma insulin and triglyceride levels in nondiabetic obese subjects. *Thromb Haemost* 1987; 57: 326-328.
  103. Estellés A, Aznar J, Tormo G, Sapena P, Tormo V, España F. Influence of a rehabilitation sports programme on the fibrinolytic activity of patients after myocardial infarction. *Thromb Res* 1989; 55: 203-212.
  104. Páramo JA, Olavide I, Barba J, Montes R, Panizo C, Muñoz MC et al. Long-term cardiac rehabilitation program favorably influence fibrinolysis and lipid concentrations in acute myocardial infarction. *Haematologica* 1998; 83: 519-524.
  105. Zambrana JL, Velasco F, Castro P, Concha M, Valles F, Montilla P et al. Comparison of bezafibrate versus lovastatin for lowering plasma insulin, fibrinogen and plasminogen activator inhibitor-1 concentrations in hyperlipemic heart transplant patients. *Am J Cardiol* 1997; 80: 836-840.
  106. Kirschstein W, Simianer S, Dempfle E, Keller H, Stegarn B, Rentrop P et al. Impaired fibrinolytic capacity and tissue plasminogen activator release in patients with restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Thromb Haemost* 1989; 62: 772-775.
  107. Rifón J, Páramo JA, Panizo C, Montes R, Rocha E. The increase of plasminogen activator inhibitor activity is associated with graft occlusion in patients undergoing aorto-coronary bypass surgery. *Br J Haematol* 1997; 99: 262-267.
  108. Eriksson P, Kalllin B, Van't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 1.851-1.855.
  109. Margaglione M, Cappuccio G, Colaizzo D, Giuliani N, Vecchione G, Grandone D et al. The PAI-1 gene locus 4G/5G polymorphism is associated with a family history of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 152-156.
  110. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Miletich JP. Arterial and venous thrombosis is not associated with the 4G/5G polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor gene in a large cohort of US men. *Circulation* 1997; 95: 59-62.
  111. Estellés A, Gilabert J, Aznar J, Loskutoff DJ, Schleef RR. Changes in the plasma levels of type 1 and type 2 plasminogen activator inhibitors in normal pregnancy and patients with severe preeclampsia. *Blood* 1989; 74: 1.332-1.338.
  112. Estellés A, Gilabert J, Keeton M, Eguchi Y, Aznar J, Grancha S et al. Altered expression of plasminogen activator inhibitor type 1 in placentas from pregnant women with preeclampsia and/or intrauterine fetal growth retardation. *Blood* 1994; 84: 143-150.
  113. Bergstein JM, Riley M, Bang NU. Role of plasminogen activator inhibitor type 1 in the pathogenesis and outcome of the hemolytic uremic syndrome. *N Engl J Med* 1992; 327: 755-759.
  114. Carmeliet P, Moons L, Lijnen R, Janssens S, Lupu F, Collen D et al. Inhibitory role of plasminogen activator inhibitor-1 in arterial wound healing and neointima formation. *Circulation* 1997; 96: 3.180-3.191.
  115. Elitzman DT, McLoy RD, Zheng X, Fay WP, Shen T, Ginsburg D et al. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in transgenic mice that either lack or overexpress the murine plasminogen activator inhibitor-1 gene. *J Clin Invest* 1996; 97: 232-237.