

# Inhibitor aktywatorów plazminogenu typu 1 (PAI-1) – udział w patogenezie choroby wieńcowej

Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) – pathogenetic role in coronary disease

Agata Młynarska<sup>1</sup>, Tomasz Waszyrowski<sup>1</sup>, Jarosław D. Kasprzak<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oddział Kardiologii, III Szpital Miejski im. dr. K. Jonschera, Łódź

<sup>2</sup> II Katedra Kardiologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Kardiol Pol 2007; 65: 1109-1114

## Wstęp

Kluczowym etapem procesu fibrynolizy jest konwersja plazminogenu do plazminy, aktywnej proteazy rozkładającej i usuwającej złogi fibryny. Konwersja ta zachodzi dzięki oddziaływaniu aktywatorów plazminogenu, takich jak t-PA (tkankowy aktywator plazminogenu) i u-PA (aktywator plazminogenu typu urokinazowego). Funkcję aktywatorów plazminogenu hamuje inhibitor aktywatorów plazminogenu typu 1 (PAI-1). Jest on głównym czynnikiem decydującym o utrzymaniu równowagi układu fibrynolitycznego [1].

Inhibitor aktywatorów plazminogenu typu 1 należy do rodziny inhibitorów proteaz serynowych (ang. *serine proteinase inhibitor*, SERPIN). Jego podstawowa funkcja polega na neutralizowaniu czynnych cząsteczek tkankowego aktywatora plazminogenu i aktywatora typu urokinazowego poprzez tworzenie z nimi stabilnych, nieaktywnych kompleksów w stosunku stechiometrycznym 1:1.

Wyniki badań immunohistochemicznych sugerują, że PAI-1 występuje nie tylko w świetle naczynia, ale także w ścianie naczyniowej. Uważa się, że drugą bardzo ważną funkcją tego peptydu może być regulacja przebudowy ściany naczyniowej na drodze hamowania migracji komórek śródbłonna i mięśni gładkich w mechanizmie zależnym od u-PA i integryn [2]. Inhibitor aktywatorów plazminogenu typu 1 może się łączyć z ligandami, takimi jak białka macierzy zewnątrzkomórkowej,

np. witronektyną, lub elementami rodziny receptorów dla lipoprotein o niskiej gęstości (ang. *low-density lipoprotein receptor*, LDLR), szczególnie z białkiem związanym z receptorem dla lipoprotein (ang. *receptor-associated protein*, LRP) oraz z urokinazą (u-PA) związaną ze swoistym receptorem (ang. *u-PA receptor*, u-PAR). Ostatnia funkcja może bezpośrednio wpływać na proces przebudowy ściany naczyniowej [3].

Na stężenie i aktywność PAI-1 w osoczu ma wpływ wiele czynników. Aktywność PAI-1 w osoczu jest regulowana wieloetapowo: przez działanie osoczowych proteaz, konwersję inhibitora do formy utajonej, na etapie uwalniania z produkujących go komórek oraz na drodze regulacji ekspresji genu PAI-1. Obserwacje kliniczne wykazały, że wysokie stężenie (aktywność) PAI-1 w osoczu jest związane z elementami składowymi zespołu metabolicznego, takimi jak: hiperinsulinemia, hipertrójglicerydemia, hiperglikemia, otyłość typu brzusznej, obniżenie frakcji HDL cholesterolu, nadciśnienie tętnicze, oraz zmienia się w zależności od pory dnia [4, 5].

Wyniki licznych badań wykazały, że zarówno spadek, jak i wzrost stężenia PAI-1 w osoczu może mieć poważne następstwa kliniczne. Wiadomo, że u chorych z całkowitym brakiem PAI-1 we krwi, spowodowanym mutacją genu PAI-1, występowały patologiczne krwawienia po urazach i zabiegach chirurgicznych [6]. Podwyższone stężenie PAI-1 w osoczu zaś uważa się za czynnik predysponujący do wystąpienia ostrych zespołów wieńcowych i powikłań zakrzepowo-zatorowych [7].

---

## Adres do korespondencji:

dr n. med. Agata Młynarska, Oddział Kardiologii, III Szpital Miejski im. dr. K. Jonschera, ul. Milionowa 14, 93-113 Łódź, tel./faks: +48 42 676 17 78, e-mail: ag.mlynarska@wp.pl

Praca wpłynęła: 19.01.2007. Zaakceptowana do druku: 31.01.2007.

## Stężenie i aktywność PAI-1 a występowanie choroby wieńcowej

Przekrojowe badania w chorobie wieńcowej wykazały obniżoną aktywność fibrynolityczną związaną z podwyższonym stężeniem antygeny PAI-1 w osoczu w porównaniu z grupą kontrolną [8, 9]. Duże prospektywne badania epidemiologiczne dotyczące układu fibrynolizy w chorobie wieńcowej wykazały silny, niezależny związek obniżonej aktywności fibrynolitycznej i podwyższonego ryzyka wystąpienia incydentów wieńcowych u młodych mężczyzn [10]. Kolejne badania prowadzone w grupach chorych z różnymi postaciami choroby wieńcowej [stabilna i niestabilna choroba wieńcowa, zawał mięśnia sercowego (MI)] przeprowadzone w ciągu ostatnich kilku lat wykazały obniżenie aktywności fibrynolitycznej z podwyższonym stężeniem antygeny PAI-1 i antygeny t-PA w wypadku obecności choroby wieńcowej oraz podwyższenie aktywności PAI-1 silniej związane z MI niż ze stabilną lub niestabilną chorobą wieńcową [8]. Wyniki potwierdzające związek pomiędzy upośledzoną funkcją fibrynolityczną a MI uzyskano w badaniach mężczyzn z przebytym MI przed 45. rokiem życia [11]. Sugerują one, że wysoka aktywność PAI-1 w surowicy jest niezależnie związana z ryzykiem ponownego MI, występującego w ciągu 3 lat od pierwszego incydentu. W prospektywnych wieloośrodkowych badaniach *European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities* wysoka aktywność i stężenie antygeny PAI-1 była związana z wystąpieniem incydentów wieńcowych u pacjentów z chorobą wieńcową, jednak w analizie wielowymiarowej ze względu na współliniowy charakter zależności stężenia PAI-1 z BMI, stężeniem trójglicerydów i cholesterolu nie można stwierdzić, czy wysokie stężenie PAI-1 było niezależnym czynnikiem ryzyka [12]. Wyniki innych badań obejmujących grupę osób z dużym ryzykiem wystąpienia choroby wieńcowej wykazały, że wysokie stężenie PAI-1 wiązało się z wcześniejszym wystąpieniem pierwszego MI [13], a także z progresją choroby wieńcowej ocenianą angiograficznie [14]. Badania oceniające związek stężenia PAI-1 z obecnością zmian w naczyniach wieńcowych wykazały istotnie wyższe stężenie antygeny i wyższą aktywność PAI-1 u chorych z istotnymi zmianami w naczyniach wieńcowych potwierdzonymi koronarograficznie w porównaniu z chorymi bez istotnych zmian. Zaobserwowano znacząco wyższą aktywność PAI-1 u potomstwa mężczyzn z przedwcześnie przeżytym MI niż w grupie kontrolnej [15], jednakże nie jest jasne, czy aktywność PAI-1 jest dziedzicznym czynnikiem ryzyka choroby wieńcowej u mężczyzn, ponieważ w innych badaniach wieloośrodkowych obserwacji tych nie potwierdzono [16].

Dowodów na to, że PAI-1 może być zaangażowany w rozwój i przebieg choroby niedokrwiennej serca, do-

starcza badanie polimorfizmu 4G/5G w regionie promotorowym genu PAI-1. Częstość allele 4G była znacząco wyższa w grupie młodych chorych z przeżytym MI w porównaniu z grupą kontrolną. Oprócz tego grupa chorych poddanych zabiegowi pomostowania aortalno-wieńcowego charakteryzowała się częstszym występowaniem homozygot 4G/4G niż grupa kontrolna [17]. Obecność genotypu 4G/4G wiązała się także z częstszą obecnością istotnych zmian w naczyniach wieńcowych badanych koronarograficznie, a w grupie chorych z obecnością innych czynników ryzyka (jak otyłość, palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze, hiperfibrinogenemia) związana była także ze stopniem nasilenia zmian. W obecności dodatkowych czynników ryzyka nasila się więc związek polimorfizmu 4G/5G z chorobą wieńcową [18]. Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań zmierzających do ustalenia, czy polimorfizm 4G/5G można uznać za genetyczny czynnik ryzyka choroby wieńcowej, są, jak dotąd, niespójne. Wyniki badania ECTIM, oceniającego wzajemne relacje aktywności PAI-1 w surowicy, polimorfizmu 4G/5G i ryzyka wystąpienia MI, potwierdziły związek allele 4G z wyższym stężeniem PAI-1 w surowicy – nie dowiodły zaś, że allele ten jest genetycznym czynnikiem ryzyka MI [19]. Opublikowana w 2006 r. metaanaliza 191 badań (ponad 66 tys. chorych i ponad 91 tys. osób w grupie kontrolnej) oceniających związek siedmiu polimorfizmów genów dla czynników uczestniczących w procesie hemostazy (czynnika V Leiden, czynnika VII, protrombiny, receptorów GP płytek krwi oraz PAI-1) z występowaniem choroby wieńcowej wykazała słaby pozytywny związek allele 4G z ryzykiem choroby wieńcowej. Autorzy metaanalizy z dystansem jednak podchodzą do uzyskanych wyników, na które mógł wpłynąć dobór populacji w poszczególnych badaniach [20]. Ostateczne rozstrzygnięcie tej kwestii wymaga przeprowadzenia szeroko zakrojonych badań prospektywnych na zdrowej populacji.

## Inhibitor aktywatorów plazminogenu typu 1 a ryzyko powikłań choroby wieńcowej

W wielu badaniach obejmujących chorych z chorobą wieńcową oraz zdrowych mężczyzn w średnim wieku podejmowano próby określenia znaczenia PAI-1 w prognozowaniu ryzyka powikłań choroby wieńcowej. Wyniki nie są jednak jednoznaczne. Wykazano, że aktywność PAI-1 jest niezależnym czynnikiem prognostycznym zgonu i MI u mężczyzn z przewlekłą chorobą wieńcową [21]. Inne badania oceniające wpływ poziomu i genotypu PAI-1 na szybkość progresji choroby wieńcowej wykazały statystycznie istotne podwyższenie poziomu tego inhibitora oraz rzadsze występowanie genotypu 5G/5G w grupie chorych z szybką progresją

choroby [22]. Podwyższona aktywność PAI-1 była także związana ze zgonem sercowym u mężczyzn po przebytym MI przed 45. rokiem życia [23] oraz z wystąpieniem incydentów niedokrwienych u chorych z miażdżycą naczyń [24]. Ponadto w grupie chorych po przebytym MI, u których stwierdzono wysokie stężenie PAI-1 i kompleksu tPA/PAI-1, obserwowano 3-krotnie wyższe ryzyko ponownego incydentu [25].

Częstość występowania ostrych zespołów wieńcowych jest istotnie wyższa we wczesnych godzinach rannych, co koreluje z obniżoną aktywnością fibrynolityczną obserwowaną w tym czasie [26]. Rytmowi dobowemu podlega również stężenie PAI-1 w surowicy, z wyraźnym jego wzrostem w godzinach rannych i obniżeniem w godzinach wieczornych. Zmienność dobową w funkcjonowaniu wielu układów w organizmie człowieka zależy od działania białkowych heterodimerów zwanych proteinami CLOCK. Ostatnio wykazano, że heterodimery białek CLOCK (BMAL1/CLOCK i BMAL2/CLOCK) aktywują promotor genu PAI-1 w sposób allelospecyficzny. Allel 4G jest aktywowany w stopniu istotnie wyższym niż allel 5G, co tłumaczy większy poranny wzrost stężenia PAI-1 w surowicy u homozygot 4G/4G i obserwowane w niektórych badaniach wyższe ryzyko incydentów wieńcowych u chorych o takim genotypie [27].

### **Inhibitor aktywatorów plazminogenu typu 1 a zjawisko restenozы naczynia wieńcowego**

Dane z literatury sugerują istnienie różnych mechanizmów biorących udział w powstawaniu restenozы po zabiegu koronaroplastyki. Pierwszy wiąże się z obniżoną zdolnością fibrynolityczną osocza i głównie jest odpowiedzialny za wczesną restenozę. Drugi mechanizm jest związany z przebudową zmienionej miażdżycowo ściany naczynia i jest przyczyną późnej restenozы. Obydwa mechanizmy mogą się wiązać ze stężeniem i/lub aktywnością PAI-1. Ostatnie badania wskazują, że u chorych po implatacji stenów powlekanych, leki antyproliferacyjne, takie jak rapamycyna i taksoidy, mogą generować syntezę PAI-1, co może być przyczyną zakrzepicy w stencie [28].

Badania mające na celu wyjaśnienie, czy na podstawie stężenia PAI-1 przed i po zabiegu PCI można przewidywać wystąpienie restenozы w naczyniu wieńcowym, wykazały istotnie wyższą aktywność PAI-1 po 3 i 6 mies. od zabiegu u chorych z restenozą [29]. Podobne wyniki uzyskano przy ocenie aktywności PAI-1 przed i po zabiegu ateryktomii wieńcowej, gdzie u chorych z późną restenozą aktywność PAI-1 istotnie wzrosła w ciągu pierwszych 24 godz. od zabiegu; w grupie chorych bez późnej restenozы pozostawała bez zmian [30]. Z drugiej strony część danych wskazuje, że wyso-

kie stężenie PAI-1 może chronić przed wystąpieniem późnej restenozы u chorych, którym implantowano stenty [28, 31]. Powyższe dane nie pozwalają jednoznacznie uznać PAI-1 za bezpośredni wskaźnik ryzyka późnej restenozы naczynia wieńcowego po zabiegu PCI.

### **Inhibitor aktywatorów plazminogenu typu 1 a leczenie fibrynolityczne w ostrym MI**

Wyniki wielu badań sugerują, że podwyższone stężenie w osoczu PAI-1 może zmniejszać skuteczność terapii fibrynolitycznej poprzez hamowanie, opóźnianie lizy zakrzepu lub przyczynienie się do wczesnej reokluzji [32–34]. To, że stężenie PAI-1 w zakrzepie w tętnicy wieńcowej jest 2000 razy większe od jego stężenia w osoczu, może wskazywać na udział inhibitora w oporności zakrzepu na lizę [35]. Przypuszcza się, że terapia trombolityczna, szczególnie przy zastosowaniu leku wrażliwego na hamowanie przez PAI-1, może być mniej efektywna w sytuacji podwyższonego stężenia PAI-1 w osoczu, a zastosowanie leków trombolitycznych opornych na PAI-1 może zwiększyć skuteczność leczenia.

Wykazano, że terapia trombolityczna jest mniej efektywna w godzinach porannych [36, 37]. W tym samym czasie przypada również szczyt stężenia w osoczu PAI-1, co mogłoby wskazywać na jego udział w zjawisku oporności na trombolizę.

Z danych z piśmiennictwa wynika, że stężenie PAI-1 w osoczu ma wpływ na wyniki leczenia fibrynolitycznego. Barbash i wsp. wykazali w grupie chorych z ostrym MI leczonych trombolitycznie, u których 72 godz. po leczeniu stwierdzono angiograficznie okluzję tętnicy odpowiedzialnej za MI, istotnie wyższe stężenie PAI-1 w porównaniu z grupą chorych z drożnym naczyniem [32]. W innej pracy wysoka aktywność PAI-1 (>4 U/ml) przed rozpoczęciem leczenia fibrynolitycznego związana była z gorszym przebiegiem klinicznym MI w obserwacji szpitalnej (istotnie wyższa częstość nieskutecznej trombolizy, związana z częstszym występowaniem ponownego MI w czasie hospitalizacji) [38]. Wysokie wyjściowe stężenie PAI-1 wiąże się także z mniejszą częstością udrożeń tętnicy wieńcowej wśród chorych leczonych inwazyjnie [39]. Ponadto, wśród chorych z wysokim wyjściowym stężeniem PAI-1 zastosowanie montepłazy, leku fibrynolitycznego o dużej oporności na działanie PAI-1, wiązało się z istotnie wyższą częstością udrożeń tętnicy wieńcowej niż zastosowanie pierwotnej interwencji wieńcowej [39].

Pomiary stężenia PAI-1 w osoczu u chorych leczonych fibrynolitycznie rt-PA z powodu ostrego MI wykazały, że stężenie PAI-1 nieznacznie spada bezpośrednio po zakończeniu podawania leku, a następnie rośnie, osiągając szczytowe stężenie 2 godz. po odstawieniu le-

ku trombolitycznego [40]. Stwierdzono również, że zmiany stężenia PAI-1 nie zależą od rodzaju podawanego leku trombolitycznego. Obserwacje te mogą potwierdzać hipotezę udziału PAI-1 w niezależnym od rodzaju zastosowanego leku „antyfibrynolitycznym efekcie odbicia”, obserwowanym po leczeniu trombolitycznym [41]. Podobne są spostrzeżenia z badań własnych, gdzie stwierdzono ponadto zależność obserwowanego „efektu odbicia” od polimorfizmu 4G/5G genu PAI-1, z najwyższym stężeniem PAI-1 w wypadku genotypu 4G/4G. Sugeruje to, że „efekt odbicia” zależy od wzrostu stężenia PAI-1 jest uwarunkowany genetycznie i może wpływać na skuteczność leczenia fibrynolitycznego [42].

Wyniki licznych badań *in vitro*, badań na modelach zwierzęcych oraz badań klinicznych wykazały znaczenie podwyższonego poziomu PAI-1 w niepowodzeniu terapii trombolitycznej. Obserwacje te sugerują pośrednio, że zwiększona oporność względem PAI-1 jest pożądaną cechą leków trombolitycznych nowej generacji, która może się przyczynić do zwiększenia skuteczności terapii trombolitycznej w ostrym MI.

Lekiem nowej generacji o wysokiej oporności na PAI-1 jest tenekteplaza (TNK-t-PA), która w badaniach doświadczalnych wykazywała wysoką aktywność lityczną w środowisku wysokiego stężenia PAI-1 [43]. Wyniki badań wśród chorych z ostrym MI nie okazały się jednak, jak dotąd, równie obiecujące jak wyniki badań doświadczalnych. Badanie ASSENT II, porównujące efekty leczenia tenekteplazą i rt-PA, wykazało podobną śmiertelność (6,2%) i podobną częstość powikłań krwotocznych w obu grupach chorych. Być może przeprowadzenie badań w podgrupie chorych z podwyższonym wyjściowym stężeniem PAI-1 mogłoby wykazać kliniczne korzyści z potencjalnej zalety tenekteplazy, polegającej na dużej oporności względem PAI-1 [44].

W badaniu COMA porównywano skuteczność leczenia ostrego MI pierwotną angioplastyką wieńcową i angioplastyką wieńcową poprzedzoną podaniem monteplazy z uwzględnieniem zmian stężenia PAI-1 [39]. Wykazano wyższe stężenie PAI-1 u chorych z niedrożnym naczyniem odpowiedzialnym za MI w porównaniu z grupą chorych z drożnym naczyniem. Ponadto, w wyodrębnionej podgrupie chorych z wysokim wyjściowym stężeniem PAI-1 częstość udrożeń tętnicy wieńcowej w grupie leczonej monteplazą z następczą angioplastyką była dużo wyższa niż w grupie leczonej tylko inwazyjnie, w przeciwieństwie do podgrupy chorych z niskim stężeniem PAI-1, gdzie nie stwierdzono istotnych różnic w częstości udrożeń tętnicy odpowiedzialnej za MI pomiędzy grupami różniącymi się sposobem leczenia [39]. Ponadto monteplaza, w przeciwieństwie do innych

leków trombolitycznych (alteplaza, lanoteplaza), nie powoduje istotnego wzrostu aktywności PAI-1 3 godz. po zakończeniu terapii [45].

Podsumowując, można stwierdzić, że liczne dowody na to, iż wysokie stężenie PAI-1 może zwiększać ryzyko wieńcowe oraz pogarszać efekty terapii trombolitycznej, są motorem badań nad poszukiwaniem metod hamowania funkcji PAI-1. W wielu badaniach doświadczalnych wykazano istotną poprawę skuteczności działania trombolityków po zastosowaniu poliklonalnych lub monoklonalnych przeciwciał anty-PAI-1. Nie mogą one jednak, ze względu na swoje właściwości immunogenne, zostać użyte w warunkach klinicznych. Trwają badania nad skutecznością niskocząsteczkowych, niebiałkowych inhibitorów PAI-1, które są pozbawione działania immunogennego i teoretycznie mogłyby w przyszłości znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej.

### Piśmiennictwo

1. Cierniewski C, Swiatkowska M, Krzeslowska J. Regulacja ekspresji inhibitora aktywatorów plazminogenu (PAI-1) w komórkach śródbłonna ludzkiego. In: Kiliańska Z, Krajewska WM, Lipińska (eds.). Białka komórek prawidłowych i patologicznych. *Łódzkie Towarzystwo Naukowe*, Łódź 1994: 185-98.
2. Stefansson S, Lawrence DA. The serpin PAI-1 inhibits cell migration by blocking integrin alpha V beta 3 binding to vitronectin. *Nature* 1996; 383: 441-3.
3. Nykjaer A, Conese M, Christensen EI, et al. Recycling of the urokinase receptor upon internalization of the uPA:serpin complexes. *EMBO J* 1997; 16: 2610-20.
4. Imperatore G, Riccardi G, Iovine C, et al. Plasma fibrinogen: a new factor of the metabolic syndrome. A population-based study. *Diabetes Care* 1998; 21: 649-54.
5. Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P. Increased plasma plasminogen activator inhibitor 1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. *Diabetologia* 1991; 34: 457-62.
6. Fay WP, Parker AC, Condrey LR, et al. Human plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) deficiency: characterization of a large kindred with a null mutation in the PAI-1 gene. *Blood* 1997; 90: 204-8.
7. Huber K. Plasminogen activator inhibitor type-1 (part one): basic mechanisms, regulation, and role for thromboembolic disease. *J Thromb Thrombolysis* 2001; 11: 183-93.
8. Aznar J, Estelles A, Tormo G, et al. Plasminogen activator inhibitor activity and other fibrinolytic variables in patients with coronary artery disease. *Br Heart J* 1988; 59: 535-41.
9. Held C, Hjerdahl P, Rehnqvist N, et al. Haemostatic markers, inflammatory parameters and lipids in male and female patients in the Angina Prognosis Study in Stockholm (APSYS). A comparison with healthy controls. *J Intern Med* 1997; 241: 59-69.
10. Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, et al. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1993; 342: 1076-9.

11. Hamsten A, Wiman B, de Faire U, et al. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1985; 313: 1557-63.
12. Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, et al. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation* 1996; 94: 2057-63.
13. Thogersen AM, Jansson JH, Boman K, et al. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation* 1998; 98: 2241-7.
14. Bavenholm P, de Faire U, Landou C, et al. Progression of coronary artery disease in young male post-infarction patients is linked to disturbances of carbohydrate and lipoprotein metabolism and to impaired fibrinolytic function. *Eur Heart J* 1998; 19: 402-10.
15. Rallidis LS, Megalou AA, Papageorgakis NH, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 is elevated in the children of men with premature myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1996; 76: 417-21.
16. Bara L, Nicaud V, Tiret L, et al. Expression of a paternal history of premature myocardial infarction on fibrinogen, factor VIII and PAI-1 in European offspring—the EARS study. European Atherosclerosis Research Study Group. *Thromb Haemost* 1994; 71: 434-40.
17. Wiman B. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma: its role in thrombotic disease. *Thromb Haemost* 1995; 74: 71-6.
18. Gardemann A, Lohre J, Katz N, et al. The 4G/5G genotype of the plasminogen activator inhibitor 4G/5G gene polymorphism is associated with coronary atherosclerosis in patients at high risk for this disease. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1121-6.
19. Ye S, Green FR, Scarabin PY, et al. The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study. Etude Cas-Temoins de l'infarctus du Myocarde. *Thromb Haemost* 1995; 74: 837-41.
20. Ye Z, Liu EH, Higgins JP, et al. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls. *Lancet* 2006; 367: 651-8.
21. Held C, Hjemdahl P, Rehnqvist N, et al. Fibrinolytic variables and cardiovascular prognosis in patients with stable angina pectoris treated with verapamil or metoprolol. Results from the Angina Prognosis study in Stockholm. *Circulation* 1997; 95: 2380-6.
22. Iwai N, Shimoike H, Nakamura Y, et al. The 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor gene is associated with the time course of progression to acute coronary syndromes. *Atherosclerosis* 1998; 136: 109-14.
23. Malmberg K, Bavenholm P, Hamsten A. Clinical and biochemical factors associated with prognosis after myocardial infarction at a young age. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 592-9.
24. Cortellaro M, Cofrancesco E, Boschetti C, et al. Increased fibrin turnover and high PAI-1 activity as predictors of ischemic events in atherosclerotic patients. A case-control study. The PLAT Group. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1412-7.
25. Wiman B, Andersson T, Hallqvist J, et al. Plasma levels of tissue plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor-1 complex and von Willebrand factor are significant risk markers for recurrent myocardial infarction in the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2019-23.
26. Angleton P, Chandler WL, Schmer G. Diurnal variation of tissue-type plasminogen activator and its rapid inhibitor (PAI-1). *Circulation* 1989; 79: 101-6.
27. Chong NW, Codd V, Chan D, et al. Circadian clock genes cause activation of the human PAI-1 gene promoter with 4G/5G allelic preference. *FEBS Lett* 2006; 580: 4469-72.
28. Muldowney III JA, Stringham JR, Levy SE, et al. Antiproliferative agents alter vascular plasminogen activator inhibitor-1 expression: a potential prothrombotic mechanism of drug-eluting stents. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 400-6.
29. Huber K, Jörg M, Probst P, et al. A decrease in plasminogen activator inhibitor-1 activity after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty is associated with a significantly reduced risk for coronary restenosis. *Thromb Haemost* 1992; 67: 209-13.
30. Lins M, Zurborn KH, Dau O, et al. Coagulation activation in patients undergoing directional coronary atherectomy. *Thromb Res* 1997; 86: 433-41.
31. Christ G, Nikfardjam M, Huber-Beckmann R, et al. Predictive value of plasma plasminogen activator inhibitor-1 for coronary restenosis: dependence on stent implantation and antithrombotic medication. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 233-9.
32. Barbash GI, Hod H, Roth A, et al. Correlation of baseline plasminogen activator inhibitor activity with patency of the infarct artery after thrombolytic therapy in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1989; 64: 1231-5.
33. Sane DC, Stump DC, Topol EJ, et al. Correlation between baseline plasminogen activator inhibitor levels and clinical outcome during therapy with tissue plasminogen activator for acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1991; 65: 275-9.
34. Torr-Brown SR, Sobel BE. Attenuation of thrombolysis by release of plasminogen activator inhibitor type-1 from platelets. *Thromb Res* 1993; 72: 413-21.
35. Jang IK, Gold HK, Ziskind AA, et al. Differential sensitivity of erythrocyte-rich and platelet-rich arterial thrombi to lysis with recombinant tissue-type plasminogen activator. A possible explanation for resistance to coronary thrombolysis. *Circulation* 1989; 79: 920-8.
36. Kono T, Morita H, Nishina T, et al. Circadian variations of onset of acute myocardial infarction and efficacy of thrombolytic therapy. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 774-8.
37. Kurnik PB. Circadian variation in the efficacy of tissue-type plasminogen activator. *Circulation* 1995; 91: 1341-6.
38. Sinkovic A. Pretreatment plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels and the outcome of thrombolysis with streptokinase in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1998; 136: 406-11.

39. Inoue T, Yaguchi I, Takayanagi K, et al. A new thrombolytic agent, monteplase, is independent of the plasminogen activator inhibitor in patients with acute myocardial infarction: initial results of the COMbining Monteplase with Angioplasty (COMA) trial. *Am Heart J* 2002; 144: E5.
40. Goto S, Kawai Y, Handa S, et al. Serial changes in plasma concentration of plasminogen activator inhibitor-1 before and serially after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *Cardiology* 1993; 82: 280-5.
41. Lucore CL, Fry ET, Nachowiak DA, et al. Biochemical determinants of clearance of tissue-type plasminogen activator from the circulation. *Circulation* 1988; 77: 906-14.
42. Młynarska A, Waszyrowski T, Kasprzak JD. Increase in plasma plasminogen activators inhibitor type 1 concentration after fibrinolytic treatment in patients with acute myocardial infarction is associated with 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1361-6.
43. Huber K. Plasminogen activator inhibitor type-1 (part two): role for failure of thrombolytic therapy. PAI-1 resistance as a potential benefit for new fibrinolytic agents. *J Thromb Thrombolysis* 2001; 11: 195-202.
44. Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic (ASSENT-2) Investigators. Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet* 1999; 354: 716-22.
45. Ogata N, Ogawa H, Ogata Y, et al. Comparison of thrombolytic therapies with mutant tPA (lanoteplase/SUN9216) and recombinant tPA (alteplase) for acute myocardial infarction. *Jpn Circ J* 1998; 62: 801-6.