

## Actividad del inhibidor del activador del plasminógeno tipo-I y el polimorfismo 4g/5g en hemodiálisis crónica

Trimarchi H<sup>1</sup>, Duboscq C<sup>2</sup>, Lombi F<sup>1</sup>, Muryan A<sup>3</sup>, Young P<sup>4</sup>, Rodríguez-Reimundes E<sup>4</sup>, Forrester M<sup>1</sup>, Seminario O<sup>1</sup>, Pereyra H<sup>1</sup>, Campolo-Girard V<sup>1</sup>, Alonso M<sup>5</sup>, Bullorsky E<sup>2</sup>

1 Servicio de Nefrología

2 Servicio de Hematología

3 Laboratorio Central

4 Servicio de Clínica Médica

Hospital Británico de Buenos Aires

Correspondencia: Dr. H. Trimarchi

Perdriel 74, Buenos Aires, Argentina.

Tel: 011-4309-6400

*htrimarchi@hotmail.com*

### Resumen

---

**Introducción:** La insuficiencia renal crónica altera la homeostasis, en parte debido a un estado de inflamación permanente a nivel de la superficie endotelial. Generalmente presente en ínfimas concentraciones, el inhibidor del activador del plasminógeno tipo-1 (PAI) y la proteína C-reactiva (PCR) son proteínas reactantes de fase aguda que se encuentran elevadas en muchas condiciones inflamatorias crónicas asociadas con la enfermedad renal, contribuyendo así al severo daño vascular característico de la insuficiencia renal.

Los objetivos fueron:

- Describir la actividad del PAI y el polimorfismo genético 4G/5G del PAI en pacientes en hemodiálisis (HD) crónica y comparar con los resultados en sujetos normales
- Analizar si los niveles de PCR se comportan como un marcador de inflamación
- Evaluar si existe asociación entre eventos tromboticos en los accesos vasculares a un año de seguimiento y el polimorfismo genético 4G/5G del PAI.

**Materiales y métodos:** Estudio prospectivo, observacional en el cual se incluyeron 36 pacientes en HD crónica: Edad media:  $66.6 \pm 12.5$  años, hombres: 26 (72%), tiempo en HD:  $28.71 \pm 22.45$  meses. Accesos vasculares: Prótesis de politetrafluoroetileno (PTFE) 9, fístulas arteriovenosas (FAV) 23, catéteres de doble luz (CAT) 4. Grupo Control: 40 sujetos normales; edad media:  $60.0 \pm 15$  años, hombres: 30 (75%). Los pacientes en HD fueron luego subdivididos en Grupo A (GA): Eventos Trombóticos (n=12), y Grupo B (GB): Sin eventos Trombóticos (n=24). Ambos grupos no fueron diferentes en cuanto a edad ( $69.2 \pm 9.12$  vs  $65.3 \pm 14.5$  años), sexo (hombres: 7; 58.3% vs 18; 81.8%), tiempo en HD ( $26.1 \pm 14.7$  vs  $30.1 \pm 38.7$  meses) o causas de insuficiencia renal. Tiempo de seguimiento de trombosis de accesos vasculares: 12 meses. Tipo de accesos vasculares: GA: PTFE: 8; FAV: 4, CAT: 1; GB: PTFE: 1, FAV: 19, CAT: 3.

**Resultados:** Los niveles de actividad del PAI fueron significativamente más elevados en los pacientes en HD que en el grupo control:  $7.21 \pm 2.13$  U/ml vs  $0.42 \pm 0.27$  U/ml ( $p < 0.0001$ ). La distribución de la variante polimórfica del PAI en los pacientes en HD fue: 5G/5G (normal): 6 (17%), 4G/5G (heterocigota): 23 (64%); 4G/4G (homocigota): 7 (19%); en el grupo control fue: 5G/5G: 14 (35%); 4G/5G: 18 (45%); 4G/4G: 8 (20%). Los niveles de PCR en HD:  $24.5 \pm 15.2$  mg/L vs en Grupo control:  $2.3 \pm 0.2$  mg/L ( $p < 0.0001$ ). Las variantes polimórficas 4G/5G del PAI en GA: 5G/5G: 3; 4G/5G: 8; 4G/4G: 1; en el GB: 5G/5G: 3; 4G/5G: 15; 4G/4G: 6.

**Conclusiones:** Los pacientes en HD mostraron un estado inflamatorio con niveles elevados de PAI y de PCR pero no en todos los casos se pudo documentar una historia de trombosis. Los niveles de actividad del PAI estaban elevados en los pacientes en HD, independientemente de sus variantes polimórficas. La variante genética de PAI más frecuente en los pacientes en HD fue 4G/5G.

**Palabra clave:** Inhibidor del activador del plasminógeno tipo-1 (PAI), hemodiálisis, Proteína C reactiva, endotelio, trombosis, polimorfismo 4G/5G del PAI, insuficiencia renal crónica, accesos vasculares

## Introducción

Los pacientes en terapia de mantenimiento con hemodiálisis crónica presentan frecuentemente eventos tromboticos a lo largo de todo el árbol vascular, particularmente en el sitio de los accesos vasculares y de las arterias coronarias, cerebrales y renales. Los hallazgos publicados en la literatura han desenmascarado tanto un estado hipofibrinolítico caracterizado por niveles elevados de PAI, un estado de inflamación crónica con disfunción endotelial y aumento de los niveles de PCR y disminución de los mediadores vasodilatadores dependientes del endotelio, como el óxido nítrico<sup>1-3</sup>. El PAI es sintetizado principalmente en el endotelio, inhibe la actividad de los activadores del plasminógeno y es considerado el regulador fisiológico más importante del sistema fibrinolítico. Varios estudios han demostrado que los niveles sanguíneos de PAI dependen de muchos factores fisiopatológicos, contribuyen a la morbilidad cardiovascular e intervienen

en el desarrollo de fibrosis tanto intra como extravascular. En sujetos normales, niveles elevados de PAI se asocian a nivel genético con una variante polimórfica en el gen que codifica al PAI, que consiste en una alteración en el número de bases de guanina (4G en lugar de 5G) en la posición -675 desde el sitio de inicio de la transcripción. Algunos estudios han demostrado que la homocigosidad para el alelo 4G puede ser un factor de riesgo independiente para el desarrollo de aterosclerosis, trombosis y daño cardiovascular, todos fenómenos altamente prevalentes en la población en HD<sup>4</sup> mientras que otros trabajos no han podido confirmar estos hallazgos<sup>5</sup>.

Los objetivos fueron:

- 1) Describir la actividad del PAI y el polimorfismo genético 4G/5G del PAI en pacientes en hemodiálisis (HD) crónica y comparar con los resultados en sujetos normales.
- 2) Analizar si los niveles de PCR se comportan como un marcador de inflamación y
- 3) Evaluar si existe asociación entre eventos tromboticos en los accesos vasculares a un año de seguimiento y el polimorfismo genético 4G/5G del PAI.

## Material y métodos

### Diseño del estudio

Estudio prospectivo, observacional, en el cual en 36 pacientes en HD crónica se dosaron los niveles circulantes de PAI, se determinó la variancia polimórfica 4G/5G y las concentraciones de PCR. Luego los pacientes fueron divididos en dos grupos de acuerdo a la existencia a un año de seguimiento de eventos tromboticos en los accesos vasculares. Se estudió además un Grupo Control compuesto por 40 sujetos normales.

### Características de los pacientes

Se incluyeron 36 pacientes en HD crónica. Se excluyeron pacientes con cáncer, insuficiencia cardíaca avanzada, enfermedad activa hepática o tiroidea, diabetes mellitus no controlada, desnutrición severa, pacientes con hematocritos  $< 32\%$ , eviden-

Tabla 1. Características de los pacientes

Grupo (%)	Hombres (%)	Edad (años)	Tiempo en HD (meses)	FAV	PTFE	CAT	Hct (%)	GN	DM	ANG	PQR	NA
A=12 (33)	7 (58.3)	69.2±12	26.1±4.7	3	8	1	33.2±8	5	1	6	0	0
B=24 (67)	18 (75)	65.3±4.5	30.1±8.7	19	2	3	32.9±7	6	4	7	6	1

**Abreviaturas:** HD, hemodiálisis; Hct, hematocrito; FAV, fistula arteriovenosa; PTFE, politetrafluoroetileno; CAT, catéter; GN, glomerulonefritis; DM, diabetes mellitus; ANG, angioesclerosis; PQR, enfermedad poliquística renal; NA, nefropatía por analgésicos.

**Símbolos:** %, por ciento

cia de infección activa o defectos genéticos o adquiridos de trombofilia.

Los pacientes fueron luego divididos en 2 grupos de acuerdo al desarrollo de trombosis en los accesos vasculares.

El grupo A incluyó pacientes con eventos trombóticos en los accesos vasculares (n=12, 33%) mientras que el grupo B consistió de pacientes libre de esta complicación (n=24, 67%). Los grupos no fueron diferentes de acuerdo a la edad, sexo, tiempo en HD y a las causas de insuficiencia renal (Tabla 1). Por último, los niveles plasmáticos de antitrombina III, proteínas C y S estaban dentro de límites normales en todos los pacientes; ningún paciente registró Factor V Leiden y/o en la proteína 20210. Tampoco hubo diferencias en los niveles de homocisteína entre ambos grupos.

#### Aspectos de la Hemodiálisis

Las sesiones de HD fueron realizadas con membranas de alto flujo con baño de bicarbonato, con un promedio de Qd (*velocidad del flujo de la solución de diálisis*) de 500 ml/minuto y un promedio de Qb (*velocidad del flujo de sangre registrado por la bomba de HD*) de 350±50 ml/minuto; se utilizaron membranas biocompatibles: filtros de poliamida (Polyflux 6L or 10L®, Gambro Suecia). Cada sesión de HD promedió en duración 3.5±0.5 horas tres veces por semana. En cada sesión de HD se utilizaron 3000 U de heparina. Todos los pacientes recibieron clopidogrel 75 mg/día. Los sujetos del

grupo control no recibieron estas drogas.

#### Características de los accesos vasculares

Accesos vasculares: Prótesis de politetrafluoroetileno (PTFE) 9, fístulas arteriovenosas (FAV) 23, catéteres de doble luz (CAT) 4 (Tabla 1).

#### Determinaciones bioquímicas

##### Actividad del PAI y genotipos

Las muestras de sangre fueron recolectadas antes de la sesión de diálisis en condiciones de ayunas y colocadas en tubos con citrato de sodio al 3.2% para la determinación de la actividad del PAI y en tubos con EDTA para la determinación del polimorfismo del PAI. Las muestras con citrato de sodio se centrifugaron a 3000 g por 15 minutos y el plasma se almacenó a -80 C hasta la determinación. La actividad del PAI (normal: 0.3-2.5 U/ml) se realizó por métodos cromogénicos de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Berichrom PAI®, Dade Behring, Newark, USA). El polimorfismo del PAI 4G/5G fue detectado por la técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) con amplificación y digestión con la enzima de restricción Bs11 según Margalione et al<sup>6</sup>.

La PCR (normal: 0-3 mg/L) fue determinada por un ensayo inmunoturbidimétrico (Vitros® 5.1 FS Chemistry system, Orthoclinical Diagnostics, New Jersey, USA).

**Tabla 2.** Actividad del PAI y niveles circulantes de PCR en pacientes en HD

GRUPO	PAI (U/ml)	PCR (mg/L)	P
Patients (n= 36)	7.21±2.13	24.5±15.2	<0.0001
Control (n=40)	4.2±2.7	2.3±0.2	<0.0001

**Abreviaturas:** API-1:inhibidor del activador del plasminógeno-1; PCR: Proteína C-reactiva.

### Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  el desvío estandard de la media (DE). La prueba de Mann-Whitney U se utilizó para evaluar diferencias entre grupos de variables cuantitativas. La prueba de Chi cuadrado o prueba de Fisher se utilizó para comparar variables categóricas.

### Aspectos éticos

El Comité de Docencia e Investigación del Hospital Británico fue informado de la ejecución del presente estudio.

## Resultados

### Resultados generales

Los resultados obtenidos en los 36 pacientes en HD fueron: Edad media:  $66.6 \pm 12.53$  años, hombres  $n=26$  (72%), tiempo en HD:  $28.71 \pm 22.45$  meses. En los 40 sujetos del Grupo Control, la edad media fue de  $60.0 \pm 15$  años y 30 fueron hombres (75%). La actividad del PAI y los niveles de PCR en los pacientes en HD fueron significativamente mayores que en el Grupo Control (Tabla 2). La distribución del polimorfismo 4G/5G del PAI en los pacientes en HD fue: 5G/5G (normal): 6 (17%), 4G/5G (heterocigota): 23 (64%); 4G/4G (homocigota): 7 (19%); y en el Grupo Control: 5G/5G: 14 (35%); 4G/5G: 18 (45%); 4G/4G: 8 (20%) (Tabla 3).

### Resultados Intergrupos

Niveles de PAI: GA vs GB:  $6.81 \pm 2.3$  vs  $7.42 \pm 1.53$  U/ml ( $p = ns$ ); PCR en GA vs GB:  $14.4 \pm 11.8$  vs  $11.8 \pm 8.4$  mg/L ( $p=ns$ ). Distribución de

la variante polimórfica del PAI: GA: 5G/5G: 3; 4G/5G: 8; 4G/4G: 1; GB: 5G/5G: 3; 4G/5G: 15; 4G/4G: 6. Accesos vasculares: GA: PTFE: 8; FAV: 3; CAT: 1; GB: PTFE: 2; FAV: 19; CAT: 3. No hubo diferencias significativas en la distribución de las variantes polimórficas del PAI entre ambos grupos.

## Discusión y Conclusiones

EL PAI, miembro de la familia SERPIN (*SERine Protease INhibitor*), es una glicoproteína de 50-kDa con una vida media de 8-10 minutos e inestable en estructura debido a la carencia de unidades de cisteína en su molécula. El PAI está presente en ínfimas concentraciones en condiciones normales y su aumento es señalado como la principal causa de hipofibrinólisis en diversos estados patológicos como sepsis, o enfermedades inflamatorias<sup>9</sup>. Sin embargo, se sabe que el PAI media otras acciones más allá de la fibrinólisis. Los niveles de PAI están aumentados en varios estados inflamatorios crónicos actuando como una poderosa molécula promotora de la fibrosis y protagoniza eventos cruciales del proceso de daño vascular<sup>10-15</sup>. La síntesis de PAI ocurre principalmente en las células endoteliales y en las plaquetas, aunque también se lleva a cabo en los macrófagos, músculo liso vascular, hígado, bazo y tejido adiposo y si bien no tiene lugar en el riñón, la síntesis dada por células residentes e inflamatorias renales sí existe en varios estados patológicos agudos y crónicos, como la nefropatía diabética, la glomerulonefritis focal y segmentaria, la nefroangioesclerosis, la nefropatía membranosa y la nefropatía crónica del transplante<sup>9,16</sup>. El PAI tiene efectos pro-fibróticos notables en el riñón, con altos niveles de PAI como predictores de mal pronóstico<sup>14</sup>. El mecanismo fisiopatológico por el cual el PAI promueve la fibrosis renal no es bien cono-

**Tabla 3.** Polimorfismo y actividad del API-I en los pacientes en HD

Variantes genéticas	Prevalencia en Argentina	Pacientes en HD (n=36)		
		Frecuencia	Actividad del PAI (UI/ml)	Eventos trombóticos
5G/5G	36 %	6 (17 %)	5.69 ± 2.01	3
4G/5G	43 %	23 (64%)	6.87 ± 1.97	8
4G/4G	21%	7 (19 %)	7.19 ± 2.17	1

**Abreviaturas:** API-1:inhibidor del activador del plasminógeno-1

cido. Además de inhibir la actividad de serino-proteasa dentro de los compartimientos vascular y extracelular, el PAI modula directamente el comportamiento celular, llevando a un ciclo vicioso de reclutamiento celular inflamatorio, activación fibroblástica y acumulación de tejido fibrótico<sup>14</sup>. En lesiones que se caracterizan por la presencia de fibrina, como ocurre en ciertas glomerulonefritis la inhibición de la fibrinólisis está firmemente asociada al daño crónico. Otros autores han demostrado que inhibiendo la síntesis de PAI experimentalmente se logra prevenir la progresión de la enfermedad crónica renal. Por otro lado, el PAI acumulado en el intersticio renal como resultado de la presencia tisular de vitronectina, presenta efectos fibrogénicos relacionados más estrechamente con su capacidad de facilitar la migración celular de monocitos y miofibroblastos. Así, las muchas propiedades reoprotectoras de los inhibidores de la enzimas convertidora de angiotensina II o de los bloqueantes del receptor tipo I de la angiotensina II podrían explicarse por sus capacidades de inhibir el PAI<sup>14</sup>.

Los niveles plasmáticos de PAI en los humanos son influenciados por factores genéticos y epigenéticos. Aunque la asociación entre los niveles de PAI y el polimorfismo son controvertidas, existen reportes que los niveles más elevados de PAI están asociados con la variante homocigota 4G/4G en la población general<sup>4</sup>. El presente estudio dio por resultado que en pacientes en HD las concentraciones de PAI fueron elevadas independientemente de su variante genética, sugiriendo que el estado inflamatorio presente en esta población, demostrado también por los niveles altos de PCR, podría ser el

responsable de los altos niveles de PAI . Estos resultados se condicen con los de Ando R et al, quien encontró que los niveles plasmáticos del PAI no fueron diferentes entre los tres genotipos del PAI en pacientes en HD<sup>18</sup>. Por un lado, la insuficiencia renal causa un aumento en los niveles de PAI<sup>7,14</sup> y por el otro, el PAI se ha postulado como un mediador crítico de daño tisular y de fibrosis intersticial renal, que puede empeorar la función renal residual en los pacientes en HD crónica. Así los altos niveles de PAI podrían marcar una activación o daño endotelial que se expresaría clínicamente tanto como un fenómeno aterosclerótico como trombótico, dos de las complicaciones más frecuentes y temidas en la población hemodializada.

Los altos niveles de PCR señalan, como ya mencionamos, un estado inflamatorio en los pacientes estudiados ; recientemente se ha sugerido la PCR afecta la fibrinólisis al disminuir el activador tisular del plasminógeno (tPA)<sup>27-30</sup>. Además, la PCR induce la expresión y la actividad del PAI y disminuye la producción de prostaciclina, sugiriendo un rol protrombótico para este mediador de inflamación<sup>2,29</sup>. Tomados en conjunto, el PAI y la PCR podrían potenciar sus acciones y contribuir al daño endotelial característico de los pacientes en HD.

Como fuera reseñado previamente, en los pacientes estudiados se han descartados otras causas de trombofilia tanto genética como adquiridas. Cuando los grupos A y B fueron analizados en relación al polimorfismo del PAI y al tipo de acceso vascular, las prótesis de PTFE fueron más frecuentes en el grupo de eventos trombóticos (grupo A). Las ca-

racterísticas moleculares y estructurales del PTFE, las interacciones mecánicas y bioquímicas entre los constituyentes de la sangre y la superficie de la prótesis podrían jugar un papel destacado en la predisposición trombótica encontrada en estos pacientes.

A modo de conclusión podemos decir que:

1-Los pacientes en HD mostraron un estado inflamatorio con niveles elevados de PAI y de PCR pero no en todos los casos se pudo documentar una historia de trombosis. Esto podría atribuirse a un breve período de seguimiento, a episodios silentes de trombosis que no involucraron los accesos vasculares o que no fueron clínicamente evidentes, o a la administración de heparina o de clopidogrel, los que ciertamente podrían haber disminuído o prevenido los episodios trombóticos.

2-Los niveles de actividad del PAI fueron altos en los pacientes en HD independientemente del tipo de variante polimórfica presente.

3- El polimorfismo 4G/5G del PAI fue la variante más frecuente en la población estudiada; la frecuencia de este polimorfismo fue mayor en los pacientes en HD que en el grupo control. Los valores del grupo control fueron similares a los publicados en la población normal de Argentina<sup>31</sup>.

Sin embargo, mucho aún queda por aprender sobre el rol del PAI-1 en la enfermedad crónica renal y en la HD. ¿Se podrá demostrar que el genotipo del PAI es un marcador útil y preciso de riesgo de enfermedad renal crónica o de mal pronóstico en los pacientes en HD? Si la angiotensina II, la aldosterona y el TGF- $\beta$  se bloquean, ¿podrá entonces el PAI seguir sintetizándose y promover trombosis o fibrosis? ¿Es el papel del PAI como inhibidor fisiológico de la fibrinólisis relevante en la enfermedad renal crónica? Mucho necesita aprenderse acerca de la inhibición terapéutica del PAI y de la relevancia clínica en su impacto sobre la trombosis y la fibrosis, así como su relación con la PCR.

## Bibliografía

1. Molino D, De Lucia D, Marotta R, Perna A, Lombardi C, Cirillo M, De Santo NG. In uremia, plasma levels of anti-protein C and anti-protein S antibodies are associated with thrombosis. *Kidney*

*Int* 2005; 68: 1223-1229

2. Singh U, Devaraj S, Jialal I. C-Reactive Protein decreases tissue plasminogen activator activity in human aortic endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 2216-2221

3. Stam F, van Guldener C, Schalkwijk CG, ter Wee PM, Donker A, Stehouwer CDA. Impaired renal function is associated with markers of endothelial dysfunction and increased inflammatory activity. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 892-898

4. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1792-1801

5. Moore JH, Smolkin ME, Lamb JM, Brown NJ, Vaughan DE. The relationship between plasma t-PA and API levels is dependent on epistatic effects of the ACE I/D and PAI 4G/5G polymorphism *Clin Gen* 2002; 62: 53-9

6. Margaglione M, Grandone E, Cappucci G, Colaizzo D, Giuliani N, Vecchione G, d'Addetta M, Di Minno G. An alternative method for PAI-1 promoter polymorphism (4G/5G) typing. *Thromb Haemost* 1997; 77: : 605-606

7. Eddy AA. Plasminogen activator inhibitor-1 and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283: 209-220

8. Sitko A, Hervio L, Loskutoff D. Plasminogen activator inhibitors. In: Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, edited by Colman R Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins 2001; 355-364

9. Zhou A, Huntington JA, Pannu NS, Carrell RW, Read RJ. How vitronectin binds PAI-1 to modulate fibrinolysis and cell migration. *Nat Struct Biol* 2003; 10: 541-544

10. Ma LJ, Nakamura S, Whitsitt JS, Marcantoni C, Davidson JM, Fogo AB. Regression of sclerosis in aging by an angiotensin inhibition-induced decrease in PAI-1. *Kidney Int* 2000; 58: 2425-2436

11. Tamaki K, Okuda S, Nakayama M, Yanagida T, Fujishima M. Transforming growth factor-beta 1 in hypertensive renal injury in Dahl salt-sensitive rats. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 2578-2589

12. Keeton M, Eguchi Y, Sawdey M, Ahn C, Loskutoff DJ. Cellular localization of type 1 plasminogen activator inhibitor messenger RNA and protein in murine renal tissue. *Am J Pathol* 1993; 142: 59-70

13. Hamano K, Iwano M, Akai Y, Sato H, Kubo A, Nishitani Y, Uyama H, Yoshida Y, Miyazaki M, Shiiki H, Kohno S, Dohi K. Expression of glomerular plasminogen activator inhibitor type 1 in glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 695-705

14. Eddy AA, Fogo AB. Plasminogen activator inhibitor-1 in chronic kidney disease: Evidence and mechanisms of action. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2999-3012

15. Baricos WH, Cortez SL, Deboisblanc M, Xin S. Transforming growth factor-beta is a potent inhibitor of extracellular matrix degradation by cultured human mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 790-795

16. Devaraj S, Xu DY, Jialal I. C-Reactive protein increases PAI-1 expression and activity in HAEC: Implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation* 2003; 107: 398-404

17. Masaru M, Atsuko H, Hideyuki Y, Takamura M and Toshimasa Y. Uremic toxins of organic anion up regulate PAI expression by induction of NFB and free radical in proximal tubular cells. *Kidney International* 2003; 63: 1671-1680

18. Ando R, Doi M, Yamauchi K, Chida Y, Ida, Endo K, Yamagi H,

- Tomura S. Association of beta fibrinogen and Factor VII polymorphism with plasma fibrinogen and factor VII levels and no association of PAI polymorphism with plasma PAI levels in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2002 Jul; 58 (1):25-32
19. Aucella F, Margaglione m, Vigilante M, Gatta G, Grandone E, Forcella M, Ktena M, De Min A, Salatino G, Procaccini DA, Stallone C. PAI-1 4G/5G and ACE I/D gene polymorphisms and the occurrence of myocardial infarction in patients on intermittent dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1142-1146
20. Emeis JJ, Kooistra T. Interleukin 1 and lipopolysaccharide induce an inhibitor of tissue-type plasminogen activator in vivo and in cultured endothelial cells. *J Exp Med* 1986; 163: 1260-1266
21. Lund LR, Riccio A, Andreasen PA, Nielsen LS, Kristensen P, Laiho M, Saksela O, Blasi F, Dano K. Transforming growth factor-beta is a strong and phase actino positive regulator of the level of type-1 plasminogen activator inhibitor mRNA in WI-38 human lung fibroblasts. *Embo J* 1987; 6: 1281-1286
22. Sawdey MS, Loskutoff DJ. Regulation of murine type 1 plasminogen activator inhibitor in vivo. Tissue specificity and induction by lipopolysaccharide, TNF-alpha and TGF-beta. *J Clin Invest* 1991; 88: 1346-1353
23. Olofsson B, Korpelainen E, Peppere MS, Mandriota SJ, Aase K, Kumar V, Gunji Y, Jeltsch MM, Shibuya M, Alitalo K, Eriksson U. VEGF-beta binds to VEGF receptor-1 and regulates plasminogen activator activity in endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 11709-11714
24. Dichtl W, Stiko A, Eriksson P, Goncalves I, Calara F, Banfi C, Ares M, Hamsten A, Nilsson J. Oxidized LDL and lysophosphatidilcholine stimulate plasminogen activator inhibitor-1 expression in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 3025-3032
25. Cheng JJ, Chao YJ, Wung BS, Wang DL. Cyclic strain-induced PAI-1 released from endothelial cells involves reactive oxygen species. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225: 100-105
26. Zidovetzki R, Wang JL, Kim JA, Chen P, Fisher M, Hofman FM. Endothelin-1 enhances PAI-1 production by human brain endothelial cells via protein kinase-C dependent pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1768-1775
27. Zhao W, Spitz DR, Oberley LW, Robbins ME. Redox modulation of the pro-fibrogenic mediator plasminogen activator inhibitor-1 following ionizing radiation. *Cancer Res* 2001; 61: 5537-5543
28. Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. CRP decreases prostacyclin release from HAEC. *Circulation* 2003; 108: 1676-1678
29. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that CRP decreases eNOS expression and bioactivity in HAEC. *Circulation* 2002; 106: 1439-1441
30. Baln AD, Lip GY. Effects of CRP on the release of von Willebrand factor, E-selectin, thrombomodulin and intercellular adhesion molecule-1 from HUVEC. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2003; 14: 335-340
31. Genoud V, Castañon M, Kordich L. Prevalencia del polimorfismo 4G/5G del inhibidor del activador del plasminogeno PAI-1 4G/5G en Argentina *Act Bioquím. Clin Latinoam.* 2006; 5 (Sup 5): 71

