

Pregledni prispevek/Review article

POVEZAVA MED METABOLNIM SINDROMOM, INHIBITORJEM AKTIVATORJA PLAZMINOGENA (PAI-1) IN ATEROSKLEROZO

METABOLIC SYNDROME, PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR (PAI-1) AND ATHEROSCLEROSIS

Alenka Mavri

Klinični oddelek za žilne bolezni, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

Prispelo 2005-03-24, sprejeto 2005-05-15; ZDRAV VESTN 2005; 74: 375–9

Ključne besede: *metabolni sindrom; PAI-1; ateroskleroza; neodzivnost na insulin; debelost; maščevje*

Izvleček – Izhodišča. *Prevalenca metabolnega sindroma v razvitem svetu strmo narašča, kar je velik zdravstveni problem, saj metabolni sindrom spremlja visoka stopnja srčno-žilne obolevnosti in umrljivosti. Na pospešen proces aterotromboze pri ljudeh z metabolnim sindromom vplivajo presnovne motnje, hipofibrinoliza zaradi zvečane ravni inhibitorja aktivatorja plazminogena (PAI-1) in kronično subklinično vnetje. Vnetni citokini, predvsem dejavnik tumorske nekroze- α , se vpletajo v uravnavanje tvorbe PAI-1 v maščevju. PAI-1 je lahko eden pomembnejših etiopatogenetskih dejavnikov tako za debelost kot tudi za neodzivnost na insulin.*

Zaključki. *Za dokončno razjasnitev povezav med metabolnim sindromom, PAI-1 in aterosklerozo bodo potrebne še številne raziskave, predvsem intervencijske.*

Key words: *metabolic syndrome; PAI-1; atherosclerosis; insulin resistance; obesity; adipose tissue*

Abstract – Background. *Metabolic syndrome is associated with high cardiovascular morbidity and mortality and its increasing prevalence is becoming one of the major health problems. Atherothrombotic process is accelerated in the metabolic syndrome and this is attributed to metabolic abnormalities, hypofibrinolysis due to increased plasma PAI-1 levels, and inflammation. Proinflammatory cytokines, particularly tumour necrosis factor- α may have an important role in PAI-1 overexpression in the adipose tissue. PAI-1 might be involved in the etiopathogenesis of obesity and insulin resistance.*

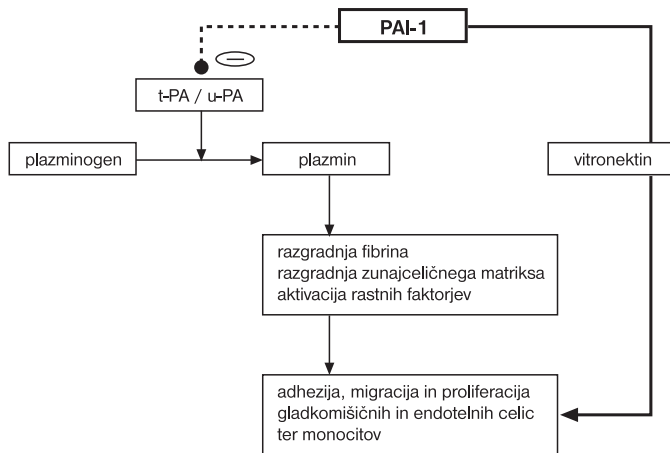
Conclusions. *To understand a complex interplay between metabolic syndrome, PAI-1 and atherosclerosis further studies are needed.*

Opredelevitev metabolnega sindroma in hipofibrinolize

Poimenovanje metabolnega sindroma v literaturi ni enotno. Zanj najdemo tudi imena, kot so sindrom neodzivnosti na insulin, sindrom X, polimetabolni sindrom in presnovni srčno-žilni sindrom. Metabolni sindrom zajema številne presnovne motnje, med katerimi so najznačilnejše: centralni tip debelosti, neodzivnost na insulin z intoleranco za glukozo, hiperinsulinemijo ali sladkorno boleznijo tipa 2, arterijska hipertenzija ter dislipidemija z zvečano koncentracijo trigliceridov in zmanjšano koncentracijo holesterola v lipoproteinih visoke gostote (1). Posebno značilne za metabolni sindrom so tudi motnje hemostaze, in sicer hipofibrinoliza zaradi povečane koncentracije inhibitorja aktivatorja plazminogena (PAI-1) (2). PAI-1 je glavni inhibitor fibrinolitičnega sistema, ki ima pomembno vlogo pri raztapljanju krvnih strdkov. V procesu fibrinolize tkivni aktivator plazminogena (t-PA) ali urokinazni aktivator plazminogena (u-PA) spremeni neaktivni plazminogen v aktivni encim plazmin, ki razgrajuje fibrin. Aktivna oblika PAI-1, ki je zelo nestabilna in jo v krvnem obtoku stabilizira le vitronektin, se hitro veže s t-PA ali u-PA in tvori stabilen

neaktiven kompleks, ki se iz obtoka odstranjuje preko jeter. Ob presežku PAI-1 pride do hipofibrinolize in posledično do povečanega odlaganja fibrina, kar je lahko vzrok številnim aterotrombotičnim zapletom, ki spremljajo metabolni sindrom (3) (sl. 1).

V razvitem svetu postaja metabolni sindrom eden pomembnejših zdravstvenih problemov. Njegova prevalenca se v ZDA ocenjuje na približno 25% (4). Ker se prebivalstvo stara, pogostost debelosti pa je vse večja že pri mladostnikih, lahko pričakujemo, da se bo prevalenca metabolnega sindroma še povečala. Osebe z metabolnim sindromom so zelo ogrožene. Pogostejše zbolevaljo za sladkorno boleznijo (5), srčnim popuščanjem (6), nealkoholnim steatohepatitisom (7) in imajo več srčno-žilnih dogodkov (8). Celokupna umrljivost je pri njih povečana (9, 10). Serumska koncentracija insulina, ki je grobo merilo za prisotnost metabolnega sindroma, se je izkazala za neodvisni dejavnik tveganja za koronarno bolezen (11). Prav zaradi visoke stopnje obolevnosti in umrljivosti ter naraščajoče prevalence metabolnega sindroma je pričakovati, da se bodo stroški zdravljenja iz leta v leto povečevali. Zato je zelo pomembno razviti metode zgodnjega odkrivanja in zdravljenja.



Sl. 1. Fibrinolitični sistem; delovanje inhibitorja aktivatorja plazminogena (PAI-1) (t-PA: tkivni aktivator plasminogena, u-PA: urokinazni aktivator plasminogena).

Figure 1. Fibrinolytic system; action of plasminogen activator inhibitor (PAI-1). (t-PA: tissue type plasminogen activator, u-PA: urokinase type plasminogen activator).

Vloga metabolnega sindroma in PAI-1 v procesu aterotromboze

Presnovne motnje, ki spremljajo metabolni sindrom, se vpletajo v proces ateroskleroze in ga na različnih stopnjah lahko pospešijo. V *in vitro* raziskavah so potrdili, da insulin, glukoza in proste maščobne kisline vplivajo na delovanje endotelijskih celic, monocitov in trombocitov. Ob hiperglikemiji pride do zmanjšane tvorbe encima sintetaze dušikovega oksida, kar vodi v okvaro endotela (12), najzgodnejšo aterosklerotično spremembo. Okvarjen endotel izgubi sposobnost uravnavanja žilnega tonusa, na njegovi površini pa se poveča koncentracija adhezijskih molekul. Nanje se vežejo monociti, se aktivirajo in privabijo se druge vnetne celice ter počasi prehajajo v žilno steno. Dokazano je bilo, da je stopnja neodzivnosti na insulin linearno povezana s koncentracijo adhezijskih molekul v krvi. Tako lahko neodzivnost na insulin posredno vpliva na vezavo monocitov na endotel (13). V žilni steni se številni monociti spremenijo v makrofage, le-ti pa po privzemu lipoproteinov nizke gostote (LDL) postanejo penaste celice in ustvarijo zgodnjo aterosklerotično spremembo. Dislipidemija, ki običajno spremlja metabolni sindrom, lahko ta proces pospeši. Znano je, da je oksidirani holesterol LDL citotoksičen za endotelijske celice in kemotaktičen za monocite (14). V napredovanju aterosklerotičnega procesa aktivirani makrofagi in penaste celice sproščajo številne vnetne citokine, rastne in prokoagulantne dejavnike, oksidirane LDL in metaloproteinaze, ki izzovejo značilne spremembe v žilni steni: kopičenje vnetnih celic, migracijo in proliferacijo gladkih mišičnih celic ter spremembe zunajceličnega matriksa s pospešeno razgradnjo kolagena.

V zadnjem času prevladuje mnenje, da ima prav vnetje osrednjo vlogo v razvoju ateroskleroze in tudi v razvoju metabolnega sindroma. Povečano koncentracijo kazalcev vnetja izmerimo v periferni krvi tako pri bolnikih s klinično izraženo aterosklerozo kot pri bolnikih z metabolnim sindromom. Serumske koncentracije C-reaktivnega proteina, citokina interleukina-6, dejavnika tumorske nekroze- α (TNF) in nekaterih adhezijskih molekul so povečane pri bolnikih z metabolnim sindromom (15–19). Izkazalo se je, da imajo prav ti vnetni kazalci napovedno vrednost za srčno-žilne dogodke (20–23). Nekateri od teh citokinov lahko izvirajo iz maščobnega tkiva,

ki se pri metabolnem sindromu značilno kopiči v predelu trebuha (15, 24).

Ko v procesu ateroskleroze nastane sprememba z obilno lipidno sredico, obdana le s tanko fibrozno ovojnico, govorimo o nestabilni aterosklerotični lehi. Pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa 2 je prisotnost nestabilnih leh pogostejša kot pri bolnikih brez sladkorne bolezni (25). Nestabilna leha se lahko zelo hitro razpoči, na izpostavljeni močno trombogeni površini nastane strdek, ki delno ali popolnoma zapre žilno svetlino in povzroči klinične znake in simptome zapore. Ob hipofibrinolizi zaradi presežka PAI-1, ki spremlja metabolni sindrom, je nastajanje strdka verjetno pospešeno. Dejansko se je povečana koncentracija plazemskega PAI-1 izkazala kot napovedni dejavnik za srčno-žilne dogodke (26, 27). PAI-1 pa nima pomembne vloge le pri nastanku strdka, temveč se vpleta tudi v sam aterosklerotični proces, saj vpliva na razgradnjo celičnega matriksa, migracijo gladkih mišičnih celic in angiogenezo. Zaradi nasprotujočih si odkritij (28–31) vloga PAI-1 pri preoblikovanju žilne stene še ni povsem jasna. Zdi se, da v zgodnji fazi ateroskleroze, ko še ni prisotno povečano odlaganje fibrina, PAI-1 omeji proliferacijo celic in stabilizira celični matriks, medtem ko ima PAI-1 nasprotni učinek pri napredovanih stopnjah ateroskleroze, kjer prihaja do obilnega odlaganja fibrina (32). Analiza človeških aterosklerotičnih sprememb je pokazala povečano prisotnost PAI-1 (33), kar je bilo še posebno izrazito pri bolnikih s sladkorno boleznijo (34). V eni naših raziskav pa smo pokazali, da je zmanjšanje plazemske koncentracije PAI-1 po intenzivnem hujšanju neodvisno povezano z izboljšanjem zgodnjih aterosklerotičnih sprememb na karotidnih arterijah (35).

Uravnavanje PAI-1 pri metabolnem sindromu

Že dolgo je znano, da je PAI-1 povezan z vsemi kazalci neodzivnosti na insulin, pa tudi z drugimi presnovnimi motnjami (36–42). Raven plazemskega PAI-1 se izrazito zmanjša ob ukrepih, ki izboljšajo neodzivnost na insulin. Tako hujšanje s hipokalorično dieto privede do pomembnega zmanjšanja koncentracije PAI-1, ki je sorazmerno s količino izgubljenega maščevja (43, 44). Tudi zdravila, ki izboljšajo občutljivost za insulin, kot sta na primer metformin in troglitazon, povzročijo zmanjšanje plazemski ravni PAI-1 (45, 46).

Mehanizmi, ki privedejo do zvečane ravni PAI-1 v krvi kot tudi izvor PAI-1 pri metabolnem sindromu, niso razjasnjeni. V raziskavah *in vitro* se je izkazalo, da na izločanje PAI-1 vplivajo številni dejavniki, značilni za metabolni sindrom. Tako insulin zveča nastajanje PAI-1 v kulturi človeških hepatocitov in adipocitov (47, 48). Glukoza, LDL, proste maščobne kisline in angiotenzin II pa so sposobni izzvati izločanje PAI-1 v različnih celičnih kulturah (49–52). Vendar pa so razmere *in vivo* mnogo bolj zapletene, saj so raziskave na ljudeh pokazale, da akutno povečanje eksogenega ali endogenega insulina ne spremlja povečanja plazemskih vrednosti PAI-1 (53, 54). Eden od dejavnikov, ki povečujejo raven PAI-1 pri metabolnem sindromu, je gotovo TNF. TNF se vpleta v uravnavanje tvorbe PAI-1 v mišjem maščevju (55), poleg tega pa lahko sproži nastanek neodzivnosti na insulin (56). Raziskave na živalskih modelih debelosti in metabolnega sindroma so pokazale, da preprečitev delovanja TNF s protitelesi proti TNF privede do zmanjšanja plazemske koncentracije PAI-1 in do zmanjšanja ekspresije PAI-1 v maščevju (57). Pri zdravih prostovoljcih pa je infuzija PAI-1 povzročila nenadno močno povečano ekspresijo PAI-1 v podkožnem maščevju (58).

Ob iskanju izvora PAI-1 pri ljudeh z metaboličnim sindromom je posebno pozornost pritegnilo maščevje, ki se obilno kopiči predvsem v abdominalnem predelu. Prav ta predel lahko najpomembnejše vpliva na koncentracijo PAI-1 v krvi, saj se

tvori PAI-1 največ v visceralnem maščevju (59), pokazali pa smo tudi, da je podkožno maščevje trebuha sposobno tvoriti več PAI-1 kot podkožno maščevje stegen (60). Verjetno je v uravnavanje tvorbe PAI-1 v človeškem maščevju pomembno vpleten TNF, saj smo ugotovili pomembno pozitivno povezavo med izraženostjo TNF receptorja I in PAI-1 (61). Drugi možni vir presežka PAI-1 pri metabolnem sindromu so jetra, ki so pogosto patološko spremenjena v smislu maščobne degeneracije – steatoze ali celo steatohepatitisa (62). Nedavno smo pokazali, da je plazemska raven PAI-1 sorazmerna s histološko opredeljeno stopnjo jetrne steatoze, pa tudi s serumskimi koncentracijami jetrnih encimov, ki so zvečane v primeru steatoze in steatohepatitisa (63).

Vloga PAI-1 pri nastanku debelosti in metabolnega sindroma

V človeškem razvoju je imelo maščevje gotovo velik pomen. Energetske zaloge, ki so se v maščevju nakopičile v obdobju, ko je bilo hrane dovolj, so omogočile preživetje v obdobju pomanjkanja. Danes, ko je v razvitih deželah hrane na pretek, način življenja pa ne vsebuje veliko telesne dejavnosti, se hitro ustvari pozitivno energetsko ravnotežje. Presežek s hrano zaužitih maščob se odlaga v adipocitih in povzroči hipertrofijo. Po eni izmed hipotez je za nastanek neodzivnosti na insulin v maščevju ključnega pomena izguba sposobnosti proliferacije in diferenciacije maščobnih celic. Preostali adipociti sicer hipertrofirajo, vendar bi bilo za vskladiščenje povečanega energetskega vnosa nujno povečanje maščobne mase. Ker to ni možno, se maščoba začne kopičiti na ektopičnih mestih – v celicah jeter, skeletnih mišic, beta celicah pankreasa in v žilni steni (64). Ob anaerobnem metabolizmu nakopičenih maščobnih kislin nastajajo lipotoksični produkti, ki med drugim povzročijo tudi lipoapoptozo (65).

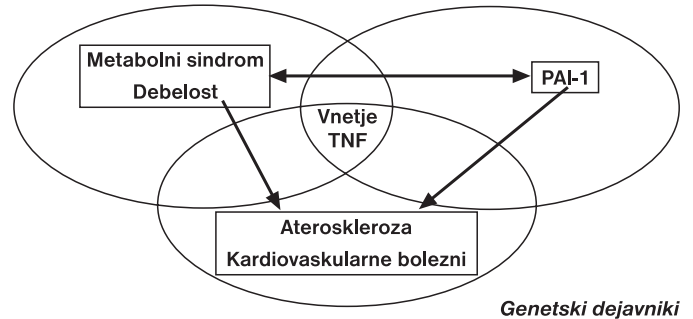
Ker PAI-1 sodeluje v procesu preoblikovanja tkiv, je možno, da vpliva tudi na preoblikovanje maščevja. Ugotovljeno je bilo, da ob dieti, bogati z maščobami, miši brez gena za PAI-1 (PAI-1 ^{-/-}) pridobijo telesno težo veliko hitreje kot genetsko nespremenjene miši (66). Nasprotno pa transgenske miši, ki imajo povečano ekspresijo PAI-1 v številnih organih in tkivih, pridobijo težo počasneje kot genetsko nespremenjene miši (67). Ti poskusi nakazujejo, da PAI-1 lahko sodeluje pri preprečitvi širjenja maščobnega tkiva, morda tako, da zmanjša diferenciacijo preadipocitov. Samo domnevamo lahko, da pri debelih ljudeh povečana ekspresija PAI-1 v maščevju zavre njegovo nadaljnje večanje. Verjetno ta učinek ni enoten v vseh telesnih predelih maščevja, saj je ekspresija PAI-1 v posameznih predelih različna. Možno je, da predeli maščevja z izrazito ekspresijo PAI-1, ki se niso več sposobni povečati in tako nakopičiti dodatne maščobe, kot tudi predeli ektopičnega odlaganja maščobe, postanejo neodzivni na insulin. V *in vitro* pogojih je že bilo dokazano, da PAI-1 prepreči delovanje insulina (68). Ne nazadnje, tudi ugotovitev, da je pri ljudeh plazemska koncentracija PAI-1 povsem neodvisni napovedni dejavnik za razvoj sladkorne bolezni tipa 2 (69), kaže na to, da je PAI-1 vpleten v nastanek neodzivnosti na insulin.

Zaključki

Metabolni sindrom, hipofibrinoliza, pospešena ateroskleroza in kronično subklinično vnetje so med seboj tesno povezani in ob sočasni prisotnosti vodijo v visoko stopnjo srčno-žilne bolečnosti in umrljivosti. Ugotavljamo, da je PAI-1 eden pomembnejših etiopatogenetskih dejavnikov za debelost, neodzivnost na insulin in aterotrombozo, spregledati pa ne smemo vnetnih dejavnikov, predvsem TNF, ki je vpleten tako v nastanek neodzivnosti na insulin in na aterosklerozo kot tudi v povečano ekspresijo PAI-1. Na vse te med seboj prepletene

povezave nedvomno močno vplivajo še dejavniki okolja in genetski dejavniki (sl. 2). Za razjasnitev teh povezav bodo potrebne še številne raziskave, predvsem intervencijske, ki bodo odprle možnosti za zmanjšanje pogostosti srčno-žilnih bolezni in za zdravljenje njihovih zapletov. Trenutno se zdijo še najbolj obetavne na predklinični ravni potekajoče raziskave z inhibitorji PAI-1 (70).

Dejavniki okolja



Sl. 2. Povezava med metabolnim sindromom, inhibitorjem aktivatorja plazminogena (PAI-1) in aterosklerozo.

Figure 2. Association between metabolic syndrome, plasminogen activator inhibitor (PAI-1) and atherosclerosis.

Literatura

- Reaven G. Syndrome X: 10 years after. *Drugs* 1999; 58 Suppl 1: 19–20.
- 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: 457–2.
- Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1792–801.
- Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among u.s. adults. *Diabetes Care* 2004; 27: 2444–9.
- Zavaroni I, Bonini L, Gasparini P, Barilli AL, Zuccarelli A, Dall'Aglio E, et al. Hyperinsulinemia in a normal population as a predictor of non-insulin-dependent diabetes mellitus, hypertension, and coronary heart disease: the Barilla factory revisited. *Metabolism* 1999; 48: 989–94.
- Taetmeyer H, McNulty P, Young ME. Adaptation and maladaptation of the heart in diabetes: Part I: general concepts. *Circulation* 2002; 105: 1727–33.
- Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917–23.
- Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24: 683–9.
- Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002; 288: 2709–16.
- Nilsson P, Nilsson JA, Hedblad B, Eriksson KF, Berglund G. Hyperinsulinemia as long-term predictor of death and ischemic heart disease in non-diabetic men: The Malmo Preventive Project. *J Intern Med* 2003; 253: 136–45.
- Despres JP, Lamarche B, Mauriege P, Cantin B, Dagenais GR, Moorjani S, Lupien PJ. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1996; 334: 952–7.
- Ding Y, Vaziri ND, Coulson R, Kamanna VS, Roh DD. Effects of simulated hyperglycemia, insulin, and glucagon on endothelial nitric oxide synthase expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279: E11–7.
- Chen NG, Holmes M, Reaven GM. Relationship between insulin resistance, soluble adhesion molecules, and mononuclear cell binding in healthy volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3485–9.
- Plutzky J, Viberti G, Haffner S. Atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus and insulin resistance: mechanistic links and therapeutic targets. *J Diabetes Complications* 2002; 16: 401–15.
- Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995; 95: 2409–15.
- Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 972–8.
- Hak AE, Stehouwer CD, Bots ML, Polderman KH, Schalkwijk CG, Westendorp IC, et al. Associations of C-reactive protein with measures of obesity, insulin resistance, and subclinical atherosclerosis in healthy, middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1986–91.

18. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000; 102: 42-7.
19. Hak AE, Pols HA, Stehouwer CD, Meijer J, Kiliaan AJ, Hofman A, et al. Markers of inflammation and cellular adhesion molecules in relation to insulin resistance in nondiabetic elderly: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4398-405.
20. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analysis. *BMJ* 2000; 321: 199-204.
21. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101: 1767-72.
22. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor- α and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 2000; 101: 2149-53.
23. Malik I, Danesh J, Whincup P, Bhatia V, Papacosta O, Walker M, et al. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet* 2001; 358: 971-6.
24. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Miles JM, Katz D, Yudkin JS, Coppack SW. Human subcutaneous adipose tissue secretes interleukin-6 but not tumour necrosis factor- α in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4196-200.
25. Moreno PR, Murcia AM, Palacios IF, Leon MN, Bernardi VH, Fuster V, Fallon JT. Coronary composition and macrophage infiltration in atherosclerotic specimens from patients with diabetes mellitus. *Circulation* 2000; 102: 2180-4.
26. Hamsten A, de Faire U, Walldius G, Dahlen G, Szamosi A, Landou C, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: Risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987; II: 3-9.
27. Thøgersen AM, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Weinehall L, Huhtasaari F, Hallmans G. 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.
28. Ploplis VA, Castellino FJ. Attenuation of neointima formation following arterial injury in PAI-1 deficient mice. *Ann NY Acad Sci* 2001; 936: 466-8.
29. DeYoung MB, Tom C, Dichek DA. Plasminogen activator inhibitor type 1 increases neointima formation in balloon-injured rat carotid arteries. *Circulation* 2001; 104: 1972-1.
30. Peng L, Bhatia N, Parker AC, Zhu Y, Fay WP. Endogenous vitronectin and plasminogen activator inhibitor-1 promote neointima formation in murine carotid arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 934-9.
31. De Waard V, Arkenbout EK, Carmeliet P, Lindner V, Pannekoek H. Plasminogen activator inhibitor 1 and vitronectin protect against stenosis in a murine carotid artery ligation model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1978-83.
32. Konstantinides S, Schäfer K, Loskutoff DJ. Do PAI-1 and vitronectin promote or inhibit neointima formation? The exact role of the fibrinolytic system in vascular remodeling remains uncertain. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1943-5.
33. Chomiki N, Henry M, Alessi MC, Anfoso F, Juhan-Vague I. Plasminogen activator inhibitor-1 expression in human liver and healthy or atherosclerotic vessel walls. *Thromb Haemost* 1994; 72: 44-53.
34. Sobel BE, Woodcock-Mitchell J, Schneider DJ, Holt RE, Marutsuka K, Gold H. Increased plasminogen activator inhibitor type 1 in coronary artery atherectomy specimens from type 2 diabetic compared with nondiabetic patients: a potential factor predisposing to thrombosis and its persistence. *Circulation* 1998; 97: 2213-21.
35. Mavri A, Stegnar M, Sentocnik JT, Videcnik V. Impact of weight reduction on early carotid atherosclerosis in obese premenopausal women. *Obes Res* 2001; 9: 511-6.
36. Vague Ph, Juhan-Vague I, Aillaud MF, Badier C, Viard R, Alessi MC, Collen D. Correlation between blood fibrinolytic activity, PA-inhibitor level, plasma insulin level and relative body weight in normal and obese subjects. *Metabolism* 1986; 35: 250-3.
37. Potter van Loon BJ, Kluit C, Radder JK, Blankenstein MA, Meinders AE. The cardiovascular risk factor plasminogen activator inhibitor type 1 is related to insulin resistance. *Metabolism* 1993; 42: 945-9.
38. Haffner S, Mykkanen L, Stern MP, Valdez RA, Heisserman JA, Bowsher RR. Relationship of proinsulin and insulin to cardiovascular risk factors in non diabetic subjects. *Diabetes* 1993; 42: 1297-302.
39. Cigolini M, Targher G, Bergamo Andreis IA, Tonoli M, Agostino G, De Sandre G. Visceral fat accumulation and its relation to plasma homeostatic factors in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 368-74.
40. Gray RP, Panahloo A, Mohamed-Ali V, Patterson DL, Yudkin JS. Proinsulin-like molecules and plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) activity in diabetic and non-diabetic subjects with and without myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1997; 130: 171-8.
41. Festa A, D'Agostino R, Mykkanen L, Tracy R, Howard BV, Haffner SM. Low-density lipoprotein particle size is inversely related to plasminogen activator inhibitor-1 levels. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 605-10.
42. Meigs JB, Mittleman MA, Nathan D, Tofler GH, Singer DE, Murphy-Sheehy PM, et al. Hyperinsulinemia, hyperglycemia and impaired hemostasis. The Framingham Offspring Study. *JAMA* 2000; 283: 221-8.
43. Mavri A, Stegnar M, Krebs M, Sentocnik JT, Geiger M, Binder BR. Impact of adipose tissue on plasma plasminogen activator inhibitor-1 in dieting obese women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1582-7.
44. Janand-Delenne B, Chagnaud C, Raccach D, Alessi MC, Juhan-Vague I, Vague P. Visceral fat as a main determinant of plasminogen activator inhibitor 1 level in women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 312-7.
45. Nagi DK, Yudkin JS. Effects of metformin on insulin resistance, risk factors for cardiovascular disease, and plasminogen activator inhibitor in NIDDM subjects: a study of two ethnic groups. *Diabetes Care* 1993; 16: 621-9.
46. Kruszynska YT, Yu JG, Olefsky JM, Sobel BE. Effects of troglitazone on blood concentrations of plasminogen activator inhibitor 1 in patients with type 2 diabetes and in lean and obese normal subjects. *Diabetes* 2000; 49: 633-9.
47. Alessi MC, Juhan-Vague I, Kooistra T, Declercq PJ, Collen D. Insulin stimulates the synthesis of plasminogen activator inhibitor 1 by the human hepatocellular cell line Hep G2. *Thromb Haemostas* 1988; 60: 491-4.
48. Morange PE, Aubert J, Peiretti F, Vague P, Lijnen HR, Verdier M, et al. Glucocorticoids and insulin promote plasminogen activator inhibitor 1 production by human adipose tissue. *Diabetes* 1999; 48: 890-5.
49. Nordt TK, Klassen KJ, Schneider DJ, Sobel BE. Augmentation of synthesis of plasminogen activator inhibitor type-1 in arterial endothelial cells by glucose and its implications for local fibrinolysis. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1822-8.
50. Stiko-Rahm A, Wiman B, Hamsten A, Nilsson J. Secretion of plasminogen activator inhibitor-1 from cultured human umbilical vein endothelial cells is induced by very low density lipoprotein. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 1067-73.
51. Nilsson L, Banfi C, Diczfalussy U, Tremoli E, Hamsten A, Eriksson P. Unsaturated fatty acids increase plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1679-85.
52. Vaughan D. Angiotensin and vascular fibrinolytic balance. *Am J Hypertens* 2002; 15: 38-8S.
53. Medvešček M, Keber D, Stegnar M, Borovničar A. Plasminogen activator inhibitor 1 response to a carbohydrate meal in obese subjects. *Fibrinolysis* 1990; 4 Suppl 2: 89-90.
54. Potter van Loon BJ, de Bart ACW, Radder JK, Frölich M, Kluit C, Meinders AE. Acute exogenous hyperinsulinaemia does not result in elevation of plasma plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in humans. *Fibrinolysis* 1990; 4 Suppl 2: 93-4.
55. 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- α and lipopolysaccharide. *J Clin Invest* 1996; 97: 37-46.
56. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996; 271: 665-8.
57. Samad F, Uysal T, Wiesbrock S, Pandey M, Hotamisligil S, Loskutoff J. Tumor necrosis factor α is a key component in the obesity-linked elevation of plasminogen activator inhibitor 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 6902-7.
58. Plomgaard P, Keller P, Keller C, Pedersen BK. TNF- α , but not IL-6, stimulates plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) expression in human subcutaneous adipose tissue. *J Appl Physiol* (January 27, 2005). doi:10.1152/jappphysiol.01220.2004
59. Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbhone G, Juhan-Vague I. Production of plasminogen activator inhibitor-1 by human adipose tissue: possible link between visceral fat accumulation and vascular disease. *Diabetes* 1997; 46: 860-7.
60. Mavri A, Alessi MC, Bastelica D, Geel-Georgelin O, Fina F, Sentocnik JT, et al. Subcutaneous abdominal, but not femoral fat expression of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) is related to plasma PAI-1 levels and insulin resistance and decreases after weight loss. *Diabetologia* 2001; 44: 2025-31.
61. Bastelica D, Mavri A, Verdier M, Bergoin M, Berthet B, Juhan-Vague I, Alessi MC. Relationships between fibrinolytic and inflammatory parameters in human adipose tissue: strong contribution of TNF α receptors to PAI-1 levels. *Thromb Haemost* 2002; 88: 481-7.
62. Luyckx FH, Lefebvre PJ, Scheen AJ. Non-alcoholic steatohepatitis: association with obesity and insulin resistance, and influence of weight loss. *Diabetes Metab* 2000; 26: 98-106.
63. Alessi MC, Bastelica D, Mavri A, Morange P, Berthet B, Grino M, Juhan-Vague I. Plasma PAI-1 levels are more strongly related to liver steatosis than to adipose tissue accumulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1262-8.
64. Ravussin E, Smith SR. Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *Ann NY Acad Sci* 2002; 967: 363-78.
65. Unger RH, Zhou YT. Lipotoxicity of beta-cells in obesity and in other causes of fatty acid spillover. *Diabetes* 2001; 50 Suppl 1: 118-21.
66. Morange PE, Lijnen HR, Alessi MC, Kopp F, Collen D, Juhan-Vague I. Influence of PAI-1 on adipose tissue growth and metabolic parameters in a murine model of diet-induced obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1150-4.
67. Lijnen HR, Maquoi E, Morange P, Voros G, Van Hoef B, Kopp F, et al. Nutritionally induced obesity is attenuated in transgenic mice overexpressing plasminogen activator inhibitor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 78-84.

-
68. Lopez-Aleman R, Redondo JM, Nagamine Y, Munoz-Canoves P. Plasminogen activator inhibitor type-1 inhibits insulin signaling by competing with α v β 3 integrin for vitronectin binding. *Eur J Biochem* 2003; 270: 814-21.
69. Festa A, D'Agostino R, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes* 2002; 51: 1131-7.
70. Crandall DL, Elokda H, Di L, Hennen JK, Gorlatova NV, Lawrence DA. Characterization and comparative evaluation of a structurally unique PAI-1 inhibitor exhibiting oral in-vivo efficacy. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1422-8.
-