

Le système fibrinolytique : activation et inhibition. Ses modifications en cas de CIVD

M.C. Alessi*

Laboratoire d'hématologie CHU Timone, rue Saint-Pierre, 13385 Marseille, France

(Reçu le 15 juillet 2002 ; accepté le 16 juillet 2002)

Résumé

Le système fibrinolytique correspond à la conversion d'un pro-enzyme, le plasminogène, en un enzyme actif, la plasmine dont les deux fonctions principales sont de détruire le caillot de fibrine et de participer à la dégradation des matrices extracellulaires. Cette conversion s'effectue sous l'action de deux activateurs du plasminogène (PA), de type tissulaire (t-PA) et urinaire (u-PA). L'activation du plasminogène médiée par le t-PA est impliquée dans la dissolution de la fibrine intravasculaire. L'u-PA se lie à un récepteur spécifique (u-PAR), et favorise l'activation du plasminogène à la surface des cellules. L'inhibition du système fibrinolytique relève de l'action d'inhibiteurs des activateurs du plasminogène (PAI) et de la plasmine (α_2 -antiplasmine). Récemment, un inhibiteur de la fibrinolyse activé par la thrombine (TAFI) a été décrit. Il élimine les résidus lysine en position COOH terminale exposés par la fibrine en cours de dégradation et contrôle ainsi la biodisponibilité des substrats de la plasmine. Le système fibrinolytique est fortement sollicité en cas de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). La CIVD septique se caractérise par une synthèse précoce et excessive de PAI-1, en réponse à la présence de cytokines inflammatoires, au premier rang desquelles se situe le TNF α . © 2002 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

α_2 -antiplasmine / D-dimères / PAI / plasminogène / TAFI / t-PA / u-PA

Summary – Fibrinolysis: activation and inhibition. Its modification during DIC.

The blood fibrinolytic system comprises an inactive proenzyme, plasminogen, that can be converted to the active enzyme, plasmin. Plasmin degrades fibrin and participates in the extracellular matrix remodelling. This conversion implies two physiological plasminogen activators (PA), the tissue type (t-PA) and the urinary type (u-PA). t-PA mediated plasminogen activation is mainly involved in the dissolution of fibrin in the circulation. u-PA binds to a specific cellular receptor (u-PAR), resulting in enhanced activation of cell bound plasminogen. Inhibition of the fibrinolytic system may occur by specific plasminogen activator inhibitors (PAI), or at the level of plasmin, mainly by α_2 -antiplasmin. Recently a thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) has been described. By eliminating carboxyterminal lysine residues from partially degraded fibrin, it could participate to the control of in vivo fibrinolysis. During DIC, fibrinolysis is induced and septic DIC is characterized by a sustained increase in PAI-1 synthesis due to the presence of proinflammatory cytokines, mainly TNF α . © 2002 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

α_2 -antiplasmin / D-dimers / PAI / plasminogen / TAFI / t-PA / u-PA

*Correspondance et tirés à part.

Adresse e-mail : marie-christine.alessi@medecine.univ-mrs.fr (M.C. Alessi).

INTRODUCTION

La fibrinolyse est un système protéolytique multifonctionnel. On lui reconnaît deux implications principales :

- la dégradation des dépôts de fibrine intra et extravasculaire ;
- la dégradation de la matrice extracellulaire qui exerce un rôle capital dans le phénomène de migration cellulaire.

Ce système se déroule en deux étapes [1] :

- transformation du plasminogène en plasmine sous l'action d'activateurs ;
- dégradation des substrats par la plasmine.

Ce système ne s'active pas au hasard, il est puissamment contrôlé par la mise en jeu de substrats ou surfaces (fibrine, récepteurs cellulaires) et d'inhibiteurs. Il dépend de la durée de vie des facteurs mis en jeu et de l'affinité qu'ils déploient les uns vis-à-vis des autres.

LES COMPOSANTS DU SYSTÈME FIBRINOLYTIQUE (FIGURE 1)

Le plasminogène

Le plasminogène est une glycoprotéine monocaténaire principalement synthétisée par l'hépatocyte. Ses propriétés sont essentiellement conditionnées par sa structure. Son extrémité N terminale se compose de cinq structures en boucle (*kringle*) qui possèdent des sites de

haute affinité pour la lysine (LBS : *lysine binding site*) [2]. Ces sites interviennent dans la fixation du plasminogène à la fibrine (et aux produits de dégradation de la fibrine), à l' α_2 -AP et à certaines protéines matricielles ou cellulaires capables d'exposer des groupements lysine [3]. L'extrémité C terminale contient les trois acides aminés (histidine⁶⁰³, sérine⁷⁴¹, acide aspartique⁶⁴⁶) qui composent la triade catalytique de la plasmine.

Le plasminogène se transforme en plasmine par clivage de la liaison peptidique Arg⁵⁶¹-Val⁵⁶². Trois voies d'activation du plasminogène sont décrites : celle qui passe par l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA), le système pro-urokinase/urokinase (scu-PA : *single chain urokinase type plasminogen activator*, tcu-PA : *two chain urokinase type plasminogen activator*) et la voie dépendante du facteur XII.

Activateur tissulaire du plasminogène

C'est une glycoprotéine mono-caténaire synthétisée principalement par la cellule endothéliale sous une forme spontanément active ce qui la distingue des autres protéases à sérine. Ses propriétés sont, comme pour le plasminogène, gouvernées par sa structure. L'extrémité N-terminale comprend les domaines d'interaction du t-PA à la fibrine et aux récepteurs cellulaires, tandis que l'extrémité C-terminale possède la triade catalytique caractéristique des protéases à sérine [4]. Le t-PA est peu efficace en l'absence de fibrine. En présence de fibrine et en particulier de fibrine partiellement

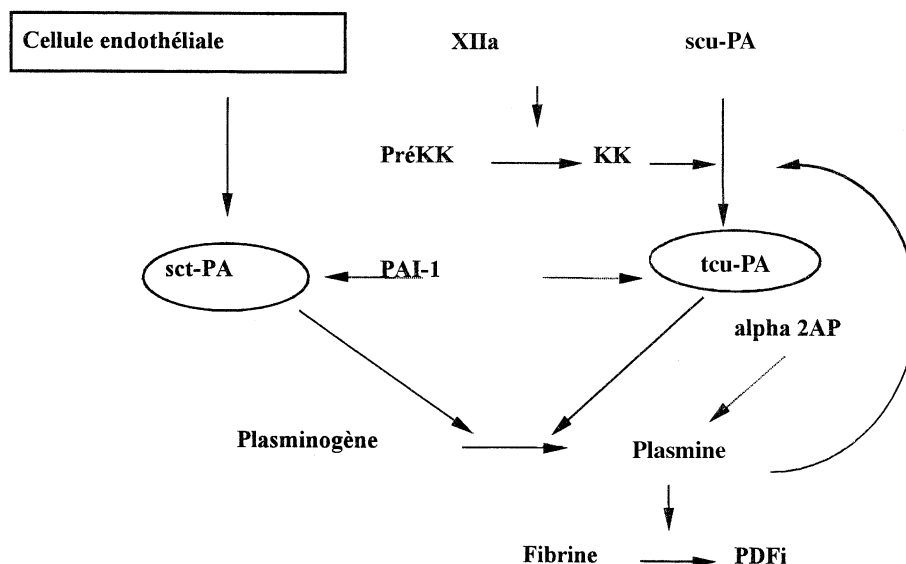


Figure 1. Les composants du système fibrinolytique. Abréviations : sct-PA : *single chain t-PA* (t-PA monocaténaire) ; scu-PA : *single chain u-PA* (urokinase monocaténaire) ; PréKK : prékallikréine ; alpha 2AP : alpha 2 antiplasmine ; PAI-1 : inhibiteur des activateurs du plasminogène de type 1 ; PDFi : produits de dégradation de la fibrine.

dégradée, l'efficacité du t-PA sur le plasminogène est fortement augmentée [5]. La fibrine représente donc une surface d'agencement pour le t-PA et le plasminogène qui majore d'environ 1 000 fois l'activation du plasminogène par le t-PA. La fibrine ne représente donc pas un substrat final inerte, mais est actrice de sa propre destruction.

Le système pro-urokinase, urokinase

Primitivement décrit dans l'urine, ce système d'activation du plasminogène exerce ses fonctions dans les compartiments intravasculaire et surtout extravasculaire. À la différence du t-PA, la pro-urokinase ne se fixe pas directement à la fibrine, mais peut l'atteindre par le biais du plasminogène [6, 7]. En effet, la pro-urokinase peut lier le plasminogène préalablement fixé à de la fibrine partiellement dégradée, c'est-à-dire dans une conformation de type α par opposition aux conformations β (plasminogène circulant) ou γ (plasminogène lié à la fibrine non dégradée). La pro-urokinase α , par contre, la possibilité de se fixer aux surfaces cellulaires par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique (u-PAR) [8]. La pro-urokinase possède une faible activité intrinsèque [9, 10] et la triade catalytique présente à l'extrémité C-terminale de la molécule ne devient totalement fonctionnelle qu'après transformation en une forme bi-caténaire, l'urokinase. Cette modification correspond au clivage de la liaison Lys¹⁵⁸-Ile¹⁵⁹ par la plasmine. D'autres sites de clivage génèrent des formes plus actives ou à l'inverse dépourvues d'activité [11, 12]. L'activation du plasminogène qui prend place à la surface des cellules peut également résulter de la liaison de complexes u-PA/u-PAR solubles par l'intermédiaire de la vitronectine [13].

Système activateur dépendant du facteur XII

Le facteur XII activé en présence de kininogène de haut poids moléculaire, agit sur la prékallikréine pour la transformer en kallikréine ; cette dernière est capable à son tour d'activer la pro-urokinase en urokinase. Une activation directe du plasminogène par le facteur XIIa a été observée *in vitro*.

La plasmine

La molécule de plasmine est une protéase à sérine constituée de deux chaînes peptidiques réunies par deux ponts disulfures. La chaîne lourde ou extrémité N-terminale du plasminogène, porte les LBS. La chaîne légère porte le site actif. Le spectre d'action de la plasmine est assez large. Elle est destinée à dégrader la fibrine et certains composants matriciels. Dans ce der-

nier cas, elle peut être directement efficace ou indirectement via l'activation de métallo-protéases [14]. Elle participe également à la transformation de pro-hormones en hormones, à l'activation de facteurs de croissance... En excès dans la circulation, elle peut atteindre d'autres substrats comme le fibrinogène, les facteurs V, VIII, von Willebrand, XIIIa, ainsi que certains facteurs du complément.

Les inhibiteurs de la fibrinolyse

Les anti-activateurs du plasminogène, dirigés contre le t-PA et l'urokinase

Le PAI-1 est une glycoprotéine appartenant à la famille des serpins. Il possède une affinité égale pour le t-PA (mono- ou bi-caténaire) et l'urokinase, mais ne se lie pas à la pro-urokinase [15]. Sa synthèse est peu constitutive et surtout induite. De nombreuses cellules sont capables de produire cet inhibiteur dans des conditions particulières comme l'inflammation, l'infection ou la régénération tissulaire. Une fois sécrété il peut se lier à une glycoprotéine de la matrice extracellulaire, la vitronectine, qui assure la stabilisation de son activité [16, 17]. La position du PAI-1 au niveau des matrices extracellulaires souligne sa participation aux processus de remodelage tissulaire. Il joue un rôle dans les phénomènes d'adhésion et de migration cellulaire en raison de sa forte affinité pour la vitronectine qui l'amène à entrer en compétition avec d'autres protéines adhésives, indépendamment de son action anti-protéolytique [18]. À côté du compartiment plasmatique, 95 % du PAI-1 circulant est présent dans les granules α plaquettaires. Bien que majoritairement inactif, le PAI-1 plaquettaire, préviendrait une lyse prématurée du caillot.

Le PAI-2 est une protéine qui s'oppose essentiellement à l'action de l'urokinase, plus faiblement à celle du t-PA [15]. Il est essentiellement produit par le monocyte. Indétectable dans le plasma de sujets sains, son taux s'élève au cours de la grossesse et dans les leucémies à composante monocyttaire. Il est retrouvé en grande quantité au niveau de certaines tumeurs.

Les antiplasmines

L' α_2 -antiplasmine (α_2 -AP) est une glycoprotéine synthétisée par le foie et présente dans la circulation à une concentration de 1 μ M soit deux fois moins que la concentration du plasminogène. Son inhibition de la plasmine libre circulante est rapide par l'intermédiaire de deux points d'ancrage : le LBS1 et le site actif de la plasmine [19]. L' α_2 -AP se lie de façon covalente aux chaînes α de la fibrine sous l'action du facteur XIIIa. Accumulée au niveau du caillot, elle éviterait une lyse prématurée de celui-ci en bloquant lentement (1/2 vie de 10 à 100 s) les premières traces de plasmine formée [20]. En cas de libération excessive d'activateurs du

plasminogène dans la circulation transformant tout le plasminogène en plasmine, les capacités inhibitrices de l' α_2 -AP sont rapidement dépassées. La plasmine libre en excès est alors susceptible de digérer des protéines circulantes comme le fibrinogène, on parle alors de fibrinogénolyse.

L' α_2 -macroglobuline (α_2 -M) inhibe de nombreux composants du système fibrinolytique, son action est lente.

Le C1-inhibiteur exerce son effet inhibiteur sur la fibrinolyse dépendant de l'activation du système contact.

La glycoprotéine riche en histidine (HRG) forme un complexe réversible avec 50 % du plasminogène plasmatique par l'intermédiaire du LBS1 et réduit la quantité de plasminogène capable de se lier à la fibrine pendant le phénomène de coagulation. Son action est comparable à celle de l'acide epsilon-amino-caproïque.

Inhibiteur de la fibrinolyse activé par la thrombine (TAFI)

Le TAFI est une pro-carboxypeptidase B [21] synthétisée par le foie. Elle est connectée à la fois aux systèmes de la coagulation et de la fibrinolyse. En effet, elle est activée durant la coagulation par la thrombine en présence de thrombomoduline. Son mécanisme d'action principal est d'éliminer les résidus lysine en position C terminale exposés à la surface de la fibrine en cours de dégradation et peut-être au niveau de certaines surfaces cellulaires. Cet enzyme aurait pour fonction d'atténuer le phénomène de « feedback positif » induit par la fibrine dégradée en diminuant la disponibilité du plasminogène à la surface de la fibrine [22] favorisant ainsi son accumulation. Le TAFI actif inhiberait également la fixation du plasminogène et du t-PA aux produits de dégradation de la fibrine [23]. L'intérêt physiologique de ce mécanisme n'est pas parfaitement documenté. À partir de plusieurs modèles animaux, il a été clairement montré que l'inhibition de cet enzyme durant une thrombolyse thérapeutique induite par le t-PA, améliore considérablement la recanalisation [24]. À côté de son action anti-fibrinolytique, le TAFI jouerait un rôle dans la réponse inflammatoire en inactivant le C3a et le C5a [25].

ACTION ET CONTRÔLE DU SYSTÈME FIBRINOLYTIQUE DANS LE COMPARTIMENT INTRA-VASCULAIRE

À l'état normal dans le sang circulant, il n'y a pas de génération de plasmine, le t-PA ayant peu d'action sur le plasminogène en l'absence de fibrine, et la scu-PA n'ayant pas d'activité enzymatique en dehors d'une liaison au plasminogène sous une conformation γ (figure 2A). Lors de l'apparition d'un caillot de fibrine,

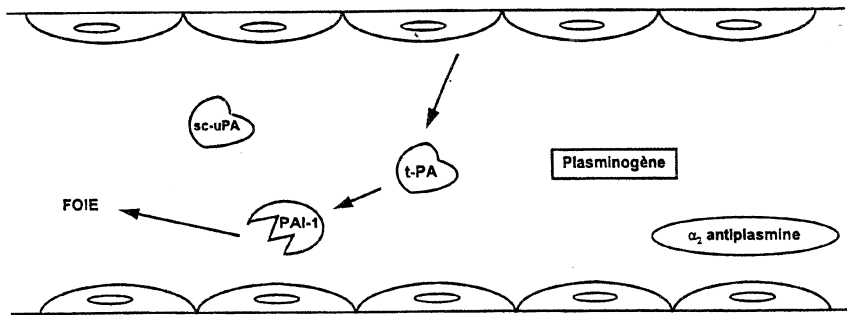
l'organisme mobilise immédiatement le plasminogène et les activateurs du plasminogène. La plasmine ne se forme qu'en cas de nécessité absolue, selon un processus très précisément contrôlé, sa génération devant rester strictement localisée au niveau du thrombus. Des interactions moléculaires complexes sont responsables de la régulation de la fibrinolyse à la surface du thrombus. Le plasminogène est incorporé durant la polymérisation de la fibrine et interagit spécifiquement mais faiblement avec la fibrine native. L'activation du plasminogène est facilitée par la liaison du t-PA à la fibrine. Au sein de ce complexe ternaire (plasminogène, t-PA, fibrine), l'efficacité du t-PA est multipliée par 1 000. Les traces de plasmine formée vont amplifier l'activité fibrinolytique locale. La fibrine partiellement digérée expose de nouveaux groupements lysine en position C-terminale susceptibles de fixer un nombre plus important de molécules de plasminogène, de t-PA et de favoriser la fixation de la pro-urokinase. Une lyse prématurée du caillot est cependant prévenue par l'incorporation des inhibiteurs (PAI-1, α_2 -AP) dans le caillot. Ces inhibiteurs circulants ont pour rôle d'éviter la dissémination systémique du processus en inhibant rapidement la plasmine ou les activateurs du plasminogène libérés du thrombus (figure 2B). Lors de la digestion de la fibrine stabilisée, on obtient les produits de dégradation également stabilisés dont les X-oligomères et les D-dimères. Le taux plasmatique des D-dimères est un bon reflet de la présence de fibrine dans l'organisme et de sa lyse.

ACTION ET CONTRÔLE DU SYSTÈME FIBRINOLYTIQUE DANS LE COMPARTIMENT EXTRA-VASCULAIRE

Ce système protéolytique s'agence au niveau de surfaces cellulaires (figure 3) possédant des récepteurs pour le plasminogène et l'urokinase. Ces récepteurs restreignent l'activité fibrinolytique à la surface cellulaire et participent ainsi au phénomène de migration cellulaire. Plusieurs protéines réceptrices du plasminogène ont été décrites. Il s'agit de protéines capables d'exposer des groupements lysine en position C-terminale.

La liaison de la pro-urokinase ou de l'urokinase à son récepteur augmente considérablement la demi-vie de l'urokinase (4-5 h), mais ne la protège pas de l'inactivation par des inhibiteurs spécifiques comme le PAI-1. Par contre, elle assure une conversion plus efficace du plasminogène lié à la surface cellulaire. La plasmine ainsi générée à la périphérie des cellules, est alors protégée de l'inactivation par l' α_2 -AP ; elle est susceptible d'activer des métalloprotéases ou de protéolyser directement certains composants matriciels. Au cours de l'angiogenèse, par exemple, les cellules endothéliales des microvaisseaux dégradent localement leur mem-

A - en l'absence de fibrine



B - en présence de fibrine

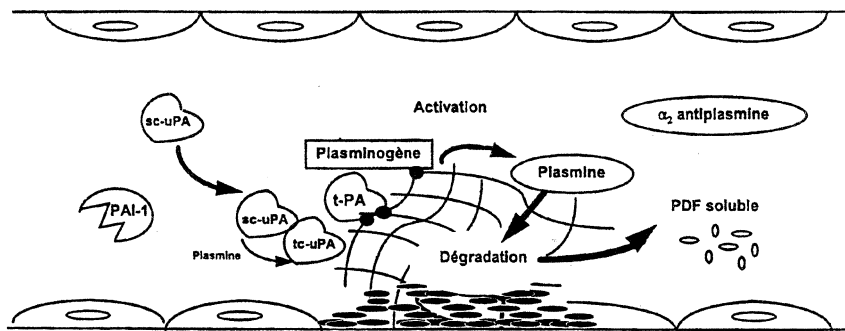


Figure 2. Fibrinolyse intravasculaire. En absence de fibrine (A), en présence de fibrine (B).

brane basale et envahissent la matrice extracellulaire environnante pour former l'ébauche de nouveaux capillaires. Ceci ne s'effectue qu'en présence d'urokinase, sécrétée par les cellules endothéliales, et de son récepteur. La protéolyse se trouve alors confinée dans l'environnement immédiat de la cellule. Un mécanisme identique est décrit au niveau de cellules tumorales.

ACTIVATION PATHOLOGIQUE DU SYSTÈME FIBRINOLYTIQUE

Le système fibrinolytique va s'activer lorsqu'une dégradation des dépôts de fibrine devient nécessaire. En cas de CIVD, le stimulus étant trop important, la consommation des facteurs aidant, l'activation de ce système dépasse son but et se transforme en une vague de protéolyse systémique. La plasmine formée en large excès, dépasse les capacités inhibitrices de l' α_2 -AP et des autres inhibiteurs moins spécifiques et s'attaque à tous un ensemble de protéines circulantes comme le fibrino-

gène, les facteurs V et VIII. Le risque de saignement devient alors majeur. L'intensité de la réponse fibrinolytique va dépendre de l'étiologie de la CIVD, certains tissus étant plus ou moins riches en activateurs du plasminogène, certaines étiologies étant plus ou moins propices à l'induction de cytokines pro-inflammatoires [26]. L'étiologie infectieuse des CIVD représente une entité particulière. En effet, elle s'accompagne d'une élévation rapide et drastique des taux circulants de t-PA quasi simultanément à ceux des complexes PAP, témoins de la génération de plasmine associée. La concentration circulante de la pro-urokinase est par contre peu modifiée. Cette première phase d'une durée de quelques heures est rapidement relayée par un déversement rapide de PAI-1 dans la circulation à l'origine d'un fort potentiel anti-fibrinolytique, favorisant l'accumulation de fibrine. Ce profil d'évolution a été décrit chez le chimpanzé [27] et l'homme [28]. Les mécanismes à l'origine de ces modifications ne sont que partiellement compris. Plusieurs notions méritent cependant

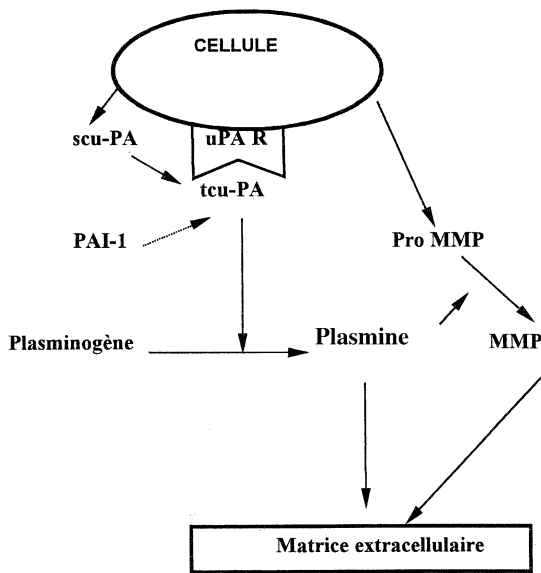


Figure 3. Activité protéolytique cellulaire dépendante du plasminogène. Abréviations : cu-PA : single chain u-PA (urokinase monocléonaire) ; u-PAR : récepteur de l'urokinase ; PAI-1 : inhibiteur des activateurs du plasminogène de type 1 ; MMP : métalloprotéase.

d'être soulignées. Alors que la logique nous impose de présenter l'activation de la fibrinolyse comme une conséquence de l'activation de la coagulation, le choc septique déroge à cette règle. En effet, l'activation de la fibrinolyse précède celle de la coagulation (figure 4). Son initiation paraît donc totalement indépendante de l'activation du système de la coagulation, elle n'est d'ailleurs pas modifiée par une modulation pharmacologique ciblée de la coagulation. L'explication de ce profil d'évolution tire plus probablement ses origines des modifications du statut « cytokinique » des individus affectés. Parmi les cytokines susceptibles d'être à la base des modifications de la fibrinolyse, le TNF- α et plus justement la disponibilité des récepteurs au TNF- α est sans nul doute au centre de ces modifications. La concentration circulante du TNF- α comme celle du t-PA et du PAI-1 s'élève très rapidement lors d'injection de bactérie *E. coli* aux babouins (figure 5). L'effet du TNF- α sur la synthèse cellulaire du PAI-1 est connu depuis plus de 15 ans. Dès 1990, Van Hinsbergh montrait l'effet de l'injection de TNF- α recombinant à des patients atteints de cancer en évolution sur le système fibrinolytique circulant. En réponse au TNF- α , les concentrations de t-PA et de PAI-1 s'élèvent de deux à sept fois, trois à 24 heures après l'injection alors que les taux de pro-urokinase ne subissent aucune modification [29]. En 1995, Gardlund montrait, lors du choc septique, une normalisation des taux circulants d'endo-

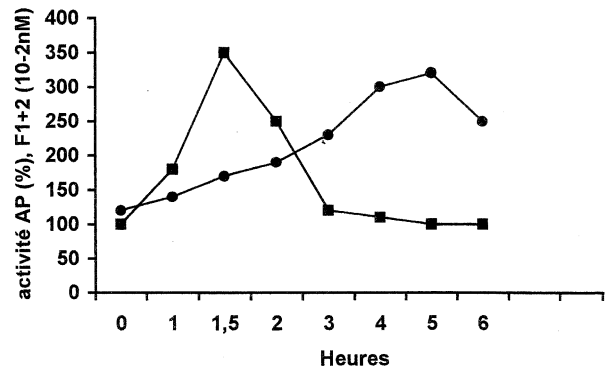


Figure 4. Évolution de l'activité activatrice du plasminogène (résultante de l'action du t-PA et du PAI-1) (■) et du fragment F1+2 (marqueur de l'activation de la coagulation) (●) après injection d'endotoxine chez le volontaire sain. L'activation de la fibrinolyse précède l'activation de la coagulation (d'après Van der Poll T. Seminars in Thrombosis and Haemostasis 2001 ; 27 : 639-51).

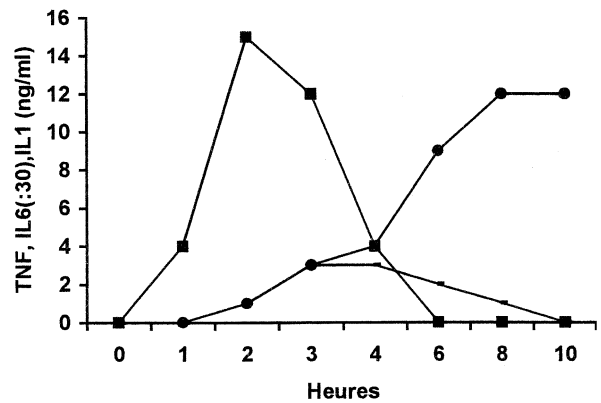


Figure 5. Évolution des taux circulants des cytokines TNF- α (■), IL6 (●), IL1 (—) après administration intraveineuse d'*Escherichia coli* chez le babouin (d'après Van der Poll T, Seminars in Thrombosis and Haemostasis 2001 ; 27 : 639-51).

toxine, de TNF- α , d'IL-1 β et de PAI-1 après 24 heures de traitement ce qui n'était pas le cas de l'IL-6 [30]. Un peu plus tard, Kornelisse décrivait, lors du choc septique méningococcique, une association significative entre les taux de PAI-1 et de TNF- α , mais pas entre ceux du PAI-1 et de l'IL-6 [31]. Ces données tendent à prouver une association privilégiée entre PAI-1 et TNF- α . Les connections entre système fibrinolytique et TNF- α ont été étudiées plus en détails chez le singe. L'élévation précoce des taux circulants de t-PA et de PAI-1 induits deux heures après l'injection d'endotoxine, est totalement bloquée par l'administration d'anticorps anti-TNF- α , mais n'est pas affectée par celle d'anti-IL-6 [27]. Chez l'homme, l'administration

d'anticorps anti-TNF- α au cours de septicémie ou de choc septique n'a cependant pas entraîné de modification des taux plasmatiques de PAI-1 [32]. Ce résultat, bien qu'allant à l'encontre de la contribution du TNF- α , pourrait peut-être s'expliquer par une administration trop tardive ou par l'incapacité des anticorps à neutraliser le TNF- α membranaire difficilement accessible.

Un taux circulant élevé de PAI-1 lors de méningococcémie a été considéré comme un facteur de mauvais pronostic [33]. Les taux circulants de PAI-1 sont en partie génétiquement déterminés. La présence d'un polymorphisme de type « insertion délétion » (4G/5G) sur le promoteur du gène du PAI-1 a été particulièrement étudiée. La présence de l'allèle 4G favorise la transcription du gène du PAI-1 en situation inflammatoire et s'associe à une concentration sanguine plus importante de PAI-1 [34]. Les individus porteurs de l'allèle 4G, seraient soumis à une évolution défavorable par comparaison aux individus de génotype 5G/5G, lors de traumatisme sévère [35].

La participation active du PAI-1 dans un contexte septique est supposée mais peu documentée. Dans un modèle de CIVD induite par l'endotoxine chez le lapin, l'inhibition du PAI-1 permet de diminuer les dépôts de fibrine au niveau du rein [36]. Chez la souris, un inhibiteur synthétique du PAI-1 administré par voie orale huit jours avant l'injection d'une dose létale d'endotoxine réduit la mortalité [37]. De plus, l'avantage de l'inhibition du PAI-1 est indirectement supportée par l'efficacité des concentrés de protéine C administrés lors des CIVD septiques dont un des effets est une diminution des taux circulants de PAI-1 actif.

RÉFÉRENCES

- Lijnen HR. Elements of the fibrinolytic system. *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 936 : 226-38.
- Forsgren M, Raden B, Israelsson M, Larsson K, Heden LO. Molecular cloning and characterization of a full-length cDNA clone for human plasminogen. *FEBS Lett* 1987 ; 213 : 254-60.
- Collen D. On the regulation and control of fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1980 ; 43 : 77-89.
- Pennica D, Holmes WE, Kohr WJ, Harkins RN, Vehar GA, Ward CA, et al. Cloning and expression of human tissue-type plasminogen activator cDNA in *E. coli*. *Nature* 1983 ; 301 : 214-21.
- Hoylaerts M, Rijken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. Role of fibrin. *J Biol Chem* 1982 ; 257 : 2912-9.
- Liu JN, Gurewich V. Fragment E-2 from fibrin substantially enhances pro-urokinase-induced Glu-plasminogen activation. A kinetic study using the plasmin-resistant mutant pro-urokinase Ala-158-rpro-UK. *Biochemistry* 1992 ; 31 : 6311-7.
- Fleury V, Lijnen HR, Anglès-Cano E. Mechanism of the enhanced intrinsic activity of single-chain urokinase-type plasminogen activator during ongoing fibrinolysis. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 18554-9.
- Blasi F. Urokinase and urokinase receptor : A paracrine/autocrine system regulating cell migration and invasiveness. *BioEssays* 1993 ; 15 : 105-11.
- Gurewich V, Pannell R, Louie S, Kelley P, Suddith RL, Greenlee R. Effective and fibrin-specific clot lysis by a zymogen precursor form of urokinase (pro-urokinase). A study in vitro and in two animal species. *J Clin Invest* 1984 ; 73 : 1731-9.
- Lijnen HR, Van Hoef B, Nelles L, Collen D. Plasminogen activation with single-chain urokinase-type plasminogen activator (scu-PA). Studies with active site mutagenized plasminogen (Ser740Ala) and plasmin-resistant scu-PA (Lys158 Glu). *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 5232-6.
- Stump DC, Lijnen HR, Collen D. Purification and characterization of a novel low molecular weight form of single-chain urokinase-type plasminogen activator. *J Biol Chem* 1986 ; 261 : 17120-6.
- de Munk GA, Parkinson JF, Groeneveld E, Bang NU, Rijken DC. Role of the glycosaminoglycan component of thrombomodulin in its acceleration of the inactivation of single-chain urokinase-type plasminogen activator by thrombin. *Biochem J* 1993 ; 290 : 655-9.
- Chavakis T, Kanse SM, Yutzy B, Lijnen HR, Preissner KT. Vitronectin concentrates proteolytic activity on the cell surface and extracellular matrix by trapping soluble urokinase receptor-urokinase complexes. *Blood* 1998 ; 91 : 2305-12.
- Carmeliet P, Collen D. Development and disease in proteinase-deficient mice : role of the plasminogen, matrix metalloproteinase and coagulation system. *Thromb Res* 1998 ; 91 : 255-85.
- Kruithof EKO. Plasminogen activator inhibitors - a review. *Enzyme* 1988 ; 40 : 113-21.
- Alessi MC, Declercq PJ, De Mol M, Nelles L, Collen D. Purification and characterization of natural and recombinant human plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). *Eur J Biochem* 1988 ; 175 : 531-40.
- Declercq PJ, De Mol M, Alessi MC, Baudner S, Paques EP, Preissner KT, et al. Purification and characterization of a plasminogen activator inhibitor-1 binding protein from human plasma. Identification as a multimeric form of S protein (Vitronectin). *J Biol Chem* 1988 ; 263 : 15454-61.
- Loskutoff DJ, Curriden SA, Hu G, Deng G. Regulation of cell adhesion by PAI-1. *APMIS* 1999 ; 107 : 54-61.
- Wiman B, Collen D. On the mechanism of the reaction between human α_2 -antiplasmin and plasmin. *J Biol Chem* 1979 ; 254 : 9291-7.
- Kimura S, Aoki N. Cross-linking site in fibrinogen for α_2 -plasmin inhibitor. *J Biol Chem* 1986 ; 261 : 15591-5.
- Eaton DL, Malloy BE, Tsai SP, Henzel W, Drayna D. Isolation, molecular cloning, and partial characterization of a novel carboxypeptidase B from human plasma. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 21833-8.
- Nesheim M, Wang W, Boffa M, Nagashima M, Morser J, Bajzar L. Thrombin, thrombomodulin and TAFI in the molecular link between coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1997 ; 78 : 386-91.
- Nesheim M, Walker J, Wang W, Boffa M, Horrovoets A, Bajzar L. Modulation of fibrin cofactor activity in plasminogen activation. *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 936 : 247-59.
- Minnema MC, Friederich PW, Levi M, Von dem Borne PAK, Mosnier LO, Meijers JCM, et al. Enhancement of rabbit jugular vein thrombolysis by neutralization of factor XI. *J Clin Invest* 1998 ; 101 : 10-4.
- Campbell W, Okada N, Okada H. Carboxypeptidase R is an inactivator of complement-derived inflammatory peptides and an inhibitor of fibrinolysis. *Immunol Rev* 2001 ; 180 : 162-7.
- Van der Poll T, De Jonge E, Levi M. Regulatory role of cytokines in disseminated intravascular coagulation. *Sem Thromb Haemost* 2001 ; 27 : 639-51.
- Biamond BJ, Levi M, Ten Cate H, Van der Poll T, Buller HR, Hack CE, et al. Plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor I release during experimental endotoxaemia in chimpanzees : effect of interventions in the cytokine and coagulation cascades. *Clin Sci (Lond)* 1995 ; 88 : 587-94.
- Haj MA, Robbie LA, Croll A, Adey GD, Bennett B. Fibrinolytic changes in a patient with toxic shock syndrome ; release of active u-PA. *Intensive Care Med* 1998 ; 24 : 258-61.

- 29 van Hinsbergh VW, Bauer KA, Kooistra T, Kluit C, Doijewaard G, Sherman ML, et al. Progress of fibrinolysis during tumor necrosis factor infusions in humans. Concomitant increase in tissue-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor type-1, and fibri(ogen) degradation products. *Blood* 1990 ; 76 : 2284-9.
- 30 Gardlund B, Sjolín J, Nilsson A, Roll M, Wickerts CJ, Wretling B. Plasma levels of cytokines in primary septic shock in humans : correlation with disease severity. *J Infect Dis* 1995 ; 172 : 296-301.
- 31 Kornelisse RF, Hazelzet JA, Savelkoul HF, Hop WC, Suur MH, Borsboom AN, et al. The relationship between plasminogen activator inhibitor-1 and proinflammatory and counterinflammatory mediators in children with meningococcal septic shock. *J Infect Dis* 1996 ; 173 : 1148-56.
- 32 Salat C, Boekstegers P, Holler E, Werdan K, Reinhardt B, Fateh-Moghadam S, et al. Hemostatic parameters in sepsis patients treated with anti-TNF alpha-monoclonal antibodies. *Shock* 1996 ; 6 : 233-7.
- 33 Pralong G, Calandra T, Glauser MP, Schellekens J, Verhoef J, Bachmann F, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 : a new prognostic marker in septic shock. *Thromb Haemost* 1989 ; 61 : 459-62.
- 34 Eriksson P, Kallin 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 : 1851-5.
- 35 Menges T, Hermans PW, Little SG, Langefeld T, Boning O, Engel J, et al. Plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and prognosis of severely injured patients. *Lancet* 2001 ; 357 : 1096-7.
- 36 Montes R, Declerck PJ, Calvo A, Montes M, Hermida J, Munoz MC, et al. Prevention of renal fibrin deposition in endotoxin-induced DIC through inhibition of PAI-1. *Thromb Haemost* 2000 ; 84 : 65-70.
- 37 Murakami J, Ohtani A, Murata S. Protective effect of T-686, an inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1 production, against the lethal effect of lipopolysaccharide in mice. *Jpn J Pharmacol* 1997 ; 75 : 291-4.