

IZABELA GOSK-BIERSKA, RAJMUND ADAMIEC

Kompleksy α_2 -plazmina–antyplazmina w chorobach sercowo-naczyniowych

α_2 -Plasmin–Antiplasmin Complex in Cardiovascular Disease

Katedra i Klinika Angiologii Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii AM we Wrocławiu

Streszczenie

α_2 -antyplazmina, główny fizjologiczny inhibitor plazminy, jest pojedynczym łańcuchem serpinowym o masie 70 kDa z reaktywnym peptydowym miejscem wiązania Arg-Met. Wiąże się gwałtownie z plazminą, prowadząc do powstania nieaktywnego 1 : 1 stochiometrycznego kompleksu. Kompleks α_2 -plazmina–antyplazmina (PAP) jest wskaźnikiem generacji plazminy. Stężenie PAP zależy od wielu czynników ryzyka rozwoju procesu miażdżycowego. Wzrost jego stężenia może wskazywać na zwiększone ryzyko zawału mięśnia serca, śmierci z przyczyn sercowych i udaru niedokrwiennego mózgu (*Adv Clin Exp Med 2005, 14, 6, 1283–1287*).

Słowa kluczowe: kompleksy α_2 -plazmina–antyplazmina (PAP), choroba sercowo-naczyniowa, zawał mięśnia serca, udar mózgu, obwodowa niewydolność tętnicza.

Abstract

α_2 -antiplasmin, the main physiological plasmin inhibitor, is a 70 kDa single chain serpin with reactive site peptide bond Arg-Met. It inhibits plasmin very rapidly following formation of an inactive 1 : 1 stochiometric complex. α_2 -plasmin–antiplasmin complex (PAP) is an indicator of plasmin generation. PAP level is associated with some risk factors of atheromatosis. Elevated PAP levels can predict increased risk of MI, cardiogenic death, and thromboembolic stroke (*Adv Clin Exp Med 2005, 14, 6, 1283–1287*).

Key words: α_2 -plasmin–antiplasmin complexes (PAP), cardiovascular disease, myocardial infarction, stroke, peripheral arterial occlusive disease.

Dotychczasowe badania udowodniły istotne znaczenie wielu czynników krzepnięcia i procesu fibrynolizy w rozwoju zakrzepicy tętniczej i wystąpieniu powikłań choroby sercowo-naczyniowej. W ostatnich latach rolę czynnika prognostycznego dla zawału mięśnia serca i/lub udaru niedokrwiennego mózgu przypisuje się kompleksom α_2 -plazmina–antyplazmina (PAP).

α_2 -antyplazmina, główny fizjologiczny inhibitor plazminy, jest pojedynczym łańcuchem serpinowym o masie 70 kDa z reaktywnym peptydowym miejscem wiązania Arg-Met. Wiąże się gwałtownie z plazminą, prowadząc do powstania nieaktywnego 1 : 1 stochiometrycznego kompleksu. Powyższa reakcja wymaga obecności wolnego aktywnego miejsca wiązania lizyny w obrębie plazminy [1]. Kompleksy α_2 -plazmina–antyplazmina są wskaźnikami generacji plazminy [2].

Stężenie PAP w osoczu jest oznaczane metodą ELISA i u osób zdrowych wynosi 120–700 μ g/l.

Kompleks α_2 -plazmina–antyplazmina a czynniki ryzyka choroby sercowo-naczyniowej

Stężenie PAP wzrasta wraz z wiekiem, dodatkowo koreluje ze stężeniem czynnika VIIc, aktywacją protrombiny (fragment F1+2 protrombiny) i białkami ostrej fazy, fibrynogenem oraz CRP, a ujemnie z inhibitorem aktywatora plazminogenu (PAI-1) [3]. Sakkien et al. oznaczali stężenie PAP u 800 starszych osób (po 65. roku życia) bez klinicznych objawów choroby sercowo-naczyniowej,

objętych programami *Cardiovascular Health Study* (CHS) [4] oraz *Honolulu Heart Program* (HHP) [5]. Średnie stężenie PAP nie różniło się w obu populacjach i wynosiło $6,05 \pm 1,46$ nmol/l w CHS oraz $6,1 \pm 1,44$ nmol/l w HHP. Zarówno w grupie osób uczestniczących w programie CHS, jak i w HHP obserwowano dodatnią korelację między stężeniem PAP a wiekiem badanych ($r = 0,30$; $p < 0,01$) i brak zależności stężenia PAP od płci. Stwierdzono ponadto, że PAP ujemnie koreluje z czynnikami związanymi z zespołem oporności na insulinę, takimi jak: stężenie insuliny na czczo ($r = -0,26$; $p < 0,001$), BMI ($r = -0,26$; $p < 0,001$). Analiza współzależności stężenia PAP i wskaźników gospodarki lipidowej wykazała dodatnią korelację stężenia PAP z frakcją HDL cholesterolu ($r = 0,15$; $p < 0,01$) [3].

Puccetti et al. [6] również obserwowali istotnie niższe stężenie PAP u pacjentów z zaburzeniami gospodarki lipidowej, szczególnie hipertriglicerydemią w porównaniu z osobami bez zaburzeń gospodarki lipidowej. Aso et al. [7] stwierdzili, że stężenie PAP jest wyższe u osób chorych na cukrzycę typu 2 w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,0001$). Stein et al. [8] wykazali dodatnią korelację między stężeniem PAP i fibrynogenu ($r = 0,2$; $p < 0,01$) u pacjentów ze zmianami miażdżycowymi stwierdzonymi w tętnicach wieńcowych wykazanymi w badaniu angiograficznym.

U pacjentów z wysokim stężeniem fibrynogenu $> 3,5$ g/l, stężenie PAP wynosiło 534 μ g/l (361–680), natomiast w grupie pacjentów z małym stężeniem fibrynogenu $< 2,5$ g/l stężenie PAP było istotnie niższe 289 μ g/l (243–440); $p < 0,001$. Powyższych zależności nie obserwowano u pacjentów z prawidłowym obrazem tętnic wieńcowych w badaniu angiograficznym.

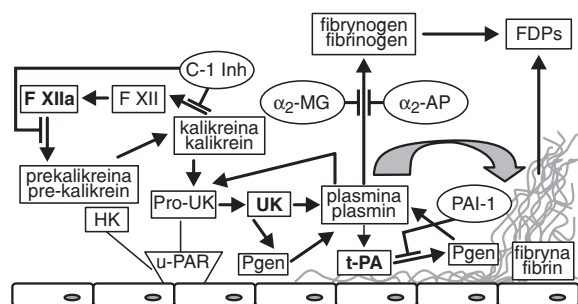
Dotychczasowe wyniki badań nie wykazały związku między stężeniem PAP a paleniem tytoniu [3, 9].

Niewiele jest doniesień analizujących wpływ aktywności ruchowej na stężenie PAP. Ćwiczenia fizyczne zwiększają stężenie PAP, D-dimerów oraz antygeny tkankowego aktywatora plazminogenu [10]. Lins et al. [11] obserwowali wzrost stężenia PAP po standardowym teście wysiłkowym u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca i u osób zdrowych.

Znaczenie kompleksów α_2 -plazmina–antyplazmina PAP w rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych

Kompleks α_2 -plazmina–antyplazmina i choroba niedokrwienna serca

Zaburzenia krzepnięcia i fibrynolizy odgrywają wiodącą rolę w patogenezie powikłań procesu miażdżycowego. Podwyższone stężenie fibrynogenu, antygeny czynnika von Willebranda, inhibitora aktywatora plazminogenu-1 (PAI-1) są uznane za czynniki zwiastujące powtórny zawał mięśnia serca i śmierć z przyczyn kardiologicznych pacjentów z chorobą niedokrwienną serca [12]. Uszkodzenie śródbłonna związane z procesem miażdżycowym sprzyja rozwojowi zmian zakrzepowych, a w następstwie aktywacji fibrynolizy. Dlatego markery procesu fibrynolizy mogą zapowiadać wystąpienie powikłań sercowo-naczyniowych [13]. Niektórzy autorzy uważają, że między innymi duże stężenie PAP jest czynnikiem wskazującym na wzrost ryzyka zaburzeń sercowo-naczyniowych. Stężenie PAP wzrasta w czasie świeżego zawału mięśnia serca i leczenia fibrynolitycznego [14]. Przeprowadzono niewiele badań prospektywnych oceniających wpływ stężenia PAP na prognozę chorób sercowo-naczyniowych, a ich wyniki są rozbieżne. Cushman et al. [15] wysunęli hipotezę, że wyjściowo duże stężenie PAP może zapowiadać zawał mięśnia serca, dławicę piersiową lub śmierć z przyczyn sercowo-naczyniowych



Ryc. 1. Proces fibrynolizy. α_2 -AP – α_2 -antyplazmina, α_2 -MG – α_2 -makroglobulina, FDP – produkty degradacji fibryny, t-PA – tkankowy aktywator plazminogenu, FXII – czynnik XII, FXIIa – aktywny czynnik XII, HK (HMWK) – kininogen o dużej masie cząsteczkowej, UK – urokinaza, ProUK – prourokinaza, Pgen – plazminogen, C-1 Inh – C 1 inhibitor, PAI-1 – inhibitor aktywatorów plazminogenu typu 1 (wg Kolde HJ, Hemostasis, Pentapharm Ltd., Basel 2001, 46)

Fig. 1. Pathways in fibrinolysis. α_2 -AP – α_2 -antiplasmin, α_2 -MG – α_2 -macroglobulin, FDP – fibrin degradation products, t-PA – tissue plasminogen activator, FXII – factor XII, FXIIa – activated factor XII, HK (HMWK) – high molecular weight kininogen, UK – urokinase, ProUK – prourokinase, Pgen – plasminogen, C-1 Inh – C 1 inhibitor, PAI-1 – plasminogen activator inhibitor type 1 (Kolde HJ, Hemostasis, Pentapharm Ltd., Basel 2001, 46)

u zdrowych osób po 65. roku życia. Badaniami objęto 146 osób po 65. roku życia, wybranych spośród 5201 osób zakwalifikowanych do programu *Cardiovascular Health Study*. Wykazano, że wzrost stężenia PAP zwiastuje zawał mięśnia serca i śmierć z przyczyn sercowych w grupie osób po 65. roku życia, nie ma natomiast znaczenia prognostycznego dla dławicy piersiowej. Względne ryzyko zawału mięśnia serca i/lub śmierci z przyczyn sercowo-naczyniowych wynosiło RR: 1,6 dla pacjentów ze stężeniem PAP 4,02–5,24 nmol/l oraz RR: 2,0 dla pacjentów ze stężeniem PAP 5,25–7,26 nmol/l. Autorzy uważają, że oznaczanie stężenia PAP jest przydatne w identyfikacji osób obciążonych dużym ryzykiem zawału mięśnia serca, u których istotne korzyści może przynieść pierwotna prewencja polegająca na stosowaniu aspiryny lub warfaryny i obniżeniu lipidów. Ciekawe spostrzeżenia dotyczyły oceny związku stężenia PAP z wykładnikami subklinicznej choroby sercowo-naczyniowej. Wykazano jedynie ujemną korelację między PAP a wartością wskaźnika kostka/ramię ($r = -0.21$; $p < 0,001$). Bez wpływu natomiast na wartość PAP pozostawały takie zmiany, jak: bezobjawowe zwężenie tętnic szyjnych, pogrubienie ściany naczyniowej tętnic szyjnych wspólnych i/lub szyjnych wewnętrznych, wymiary lewej komory serca, nieprawidłowy zapis elektrokardiograficzny [3, 15].

Redono et al. [16], w badaniach prospektywnych obejmujących 200 osób po przebytym zawał mięśnia serca, oceniali ryzyko wystąpienia ponownego zawału w czasie dwuletniej obserwacji. Powtórny zawał mięśnia serca stwierdzono u 37 badanych. Wykazano, że małe stężenie PAP w osoczu jest związane z relatywnym wzrostem ryzyka kolejnego zawału mięśnia serca, potrzebą wykonania przezskórnej angioplastyki lub zabiegu rewaskularyzacji.

Badania van der Bom et al. [17] nie potwierdziły bezpośredniego związku między istnieniem choroby sercowo-naczyniowej (przebyty zawał mięśnia serca, udar niedokrwienny mózgu i/lub TIA, obwodowa niewydolność tętnicza) i stężeniem PAP. Stwierdzono natomiast, że wzrost stężenia kompleksów trombina-antytrrombina (TAT) i PAP zwiększają korelację stężenia D-dimerów z częstością występowania incydentów sercowo-naczyniowych.

Kompleks α_2 -plazmina–antyplazmina i udar mózgu

Suehiro et al. [18] uważają, że wyższe stężenie antygeny vWF, PAP, D-dimeru, kompleksów

trombina–antytrrombina wskazują na uszkodzenie ściany naczyniowej i/lub zaburzenia krzepnięcia i fibrynolizy u pacjentów po przebytym udarze niedokrwiennym mózgu.

Proces miażdżycowy w obrębie łuku aorty jest częstą przyczyną zatorów mózgu, a u większości chorych jest rozpoznawany dopiero po przebytych powikłaniach zatorowych. Ehlermann et al. [19] stwierdzili, że zaawansowanym zmianom miażdżycowym w łuku aorty, rozpoznanym na podstawie przezprzełykowej echokardiografii, towarzyszy wzrost stężenia PAP ($728 \pm 297 \mu\text{g/l}$ vs $453 \pm 243 \mu\text{g/l}$ w grupie kontrolnej); najsilniejszym czynnikiem ryzyka miażdżycy w łuku aorty jest cukrzyca, a w dalszej kolejności zaburzenia lipidowe i nadciśnienie.

Badania prowadzone u pacjentów z migotaniem przedsionków w ramach *Stroke Prevention in Atrial Fibrillation III Study* wykazały wzrost stężenia PAP w grupie wysokiego ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych (skurczowe ciśnienie tętnicze powyżej 160 mmHg, przebyty w przeszłości zator, niewydolność serca, upośledzona funkcja lewej komory, płeć żeńska, wiek powyżej 75. roku życia) w porównaniu z grupą małego ryzyka. Nie obserwowano zależności między stężeniem PAP a wartością INR u osób leczonych warfaryną. W związku z powyższym uznano, że stężenie PAP u pacjentów z migotaniem przedsionków jest związane z kliniczną charakterystyką predysponującą do powikłań zakrzepowo-zatorowych, szczególnie z upośledzoną funkcją lewej komory i nie jest modyfikowane leczeniem antykoagulacyjnym. Powyższe badania wykazują, że PAP może być markerem ryzyka udaru u pacjentów z migotaniem przedsionków [20].

Ono et al. [21] poddając ocenie wpływ migotania przedsionków na występowanie udaru mózgu badali stężenie PAP u 46 osób z udarem i migotaniem przedsionków oraz 87 pacjentów z udarem bez zaburzeń rytmu serca. W grupie pacjentów poniżej 64 lat z migotaniem przedsionków i przebytym udarem stwierdzono większe stężenie PAP w porównaniu z grupą bez migotania przedsionków. Nie obserwowano tego zjawiska u osób powyżej 75. roku życia. Uznano, że duże stężenie PAP u osób poniżej 64 lat z objawami ogniskowego niedokrwienia mózgu i migotaniem przedsionków wskazuje na podłoże zatorowe udaru.

Wyższe stężenie PAP i kompleksów trombina–antytrrombina oraz wzrost agregacji płytek u chorych ze świeżym udarem niedokrwiennym mózgu i dużym stężeniem CRP, w stosunku do pacjentów z prawidłowym stężeniem CRP, wskazuje na istnienie zależności między procesem zapalnym a wzrostem ryzyka powikłań zakrzepowych w przebiegu udaru mózgu [22].

Kompleks α_2 -plazmina–antyplazmina i obwodowa niewydolność tętnicza

Wyniki badań dotyczące współzależności między stężeniem PAP a obwodową niewydolnością tętniczą w przebiegu procesu miażdżycowego są również rozbieżne.

Sakkieni et al. [3] stwierdzili, że stężenie PAP zależy od stopnia zaawansowania powikłań procesu miażdżycowego w tętnicach obwodowych ocenianego wartością wskaźnika kostka/ramię. Obniżenie aktywności fibrynolizy w obecności subklinicznych chorób sercowo-naczyniowych u osób z hiperinsulinemią lub zaburzeniami tolerancji glukozy sugeruje, że zahamowanie generacji plazminy może sprzyjać u tych chorych rozwojowi powikłań procesu miażdżycowego. Stężenie PAP silniej koreluje ze wskaźnikiem kostka/ramię u pacjentów bez zaburzeń metabolicznych w porównaniu z pacjentami z dwoma lub więcej wykładnikami zespołu oporności na insulinę lub chorymi na cukrzycę typu 2, a zależność między PAP i wskaźnikiem kostka/ramię jest tym słabiej wyrażona, im intensywniejsze są objawy zespołu oporności insulinowej.

Mustonen et al. [10] oceniali wpływ subma-

ksymalnego wysiłku na proces krzepnięcia i fibrynolizy u pacjentów z przewlekłym niedokrwieniem kończyn w porównaniu z grupą kontrolną. Ćwiczenia fizyczne zwiększały stężenia PAP w obu grupach. Nie stwierdzono różnic w stężeniu PAP między grupą pacjentów z obwodową niewydolnością tętniczą a grupą kontrolną zarówno przed, jak i po wysiłku. U pacjentów z przewlekłym niedokrwieniem kończyn obserwowano natomiast większe stężenie fibrynogenu, D-dimerów, inhibitora aktywatora plazminogenu.

W badaniach własnych wykazano wzrost stężenia PAP u pacjentów z chropaniem przestankowym, szczególnie ze współistniejącą cukrzycą typu 2. U chorych na cukrzycę bez powikłań sercowo-naczyniowych natomiast nie stwierdzono wzrostu stężenia PAP, co może sugerować, że czynnikiem decydującym o generacji plazminy u chorych na cukrzycę typu 2 jest uszkodzenie naczyń tętniczych w przebiegu makroangiopatii cukrzycowej, a nie sam fakt istnienia zaburzeń gospodarki węglowodanowej [23].

Wobec niewielkiej liczby badań prospektywnych i rozbieżnych wyników, konieczne jest prowadzenie dalszych obserwacji, które pozwoliłyby na ostateczne ustalenie znaczenia kompleksu α_2 -plazmina–antyplazmina w prognozowaniu powikłań sercowo-naczyniowych.

Piśmiennictwo

- [1] Lijnen HR: Gene targeting in hemostasis. Alpha-2-antiplasmin. *Frontiers in Bioscience* 2001, 6, D 239–247.
- [2] Holvoet P, de Boer A, Verstreken M, Collen D: An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the measurement of plasmin-alpha₂-antiplasmin complex in human plasma: application to the detection of *in vivo* activation of the fibrinolytic system. *Thromb Haemost* 1986, 56, 124–127.
- [3] Sakkinen PA, Cushman M, Psaty BM, Rodriguez B, Boineau R, Kuller LH, Tracy RP: Relationship of plasmin generation to cardiovascular disease risk factors in elderly men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999, 19(3), 499–504.
- [4] Fried L, Borhani N, Enright P, Furberg C, Gardin J, Kronmal R, Kuller L, Manolio T, Mittelmark M, Newman A, O'Leary D, Psaty B, Rautaharju P, Tracy R, Weiler P for the CHS Research Group. The Cardiovascular Health Study: design and rationale. *Ann Epidemiol* 1991, 1, 253–276.
- [5] Curb J, Petrovitch H, Rodriguez B: Fourth examination. In: Honolulu Heart Program: An Epidemiologic Study of Coronary Heart Disease and Stroke. Ed. Kagan A. Harwood Academic Press, Amsterdam 1996.
- [6] Puccetti L, Pasqui AL, Pastorelli M, Bova G, Cercignani M, Palaazzuoli A, Auteri A, Bruni F: Different mechanisms of fibrinolysis impairment among dyslipidemic subjects. *Int J Clin Pharmacol Res* 2001, 21 (3–4), 147–155.
- [7] Aso Y, Matsumoto S, Fujiwara Y, Tayama K, Inukai T, Takemura Y: Impaired fibrinolytic compensation for hypercoagulability in obese patients with type 2 diabetes; Association with increased plasminogen activator inhibitor-1. *Metab Clin Exp* 2002, 51, 471–476.
- [8] Stein D, Heins M, Schoebel FC, Pels K, Jax TW, Stiegler H, Reinauer H, Strauer BE, Leschke M: Activation of the fibrinolytic system in patients with coronary artery disease and hyperfibrinogenemia. *Thromb Haemost* 1997, 77, 970–974.
- [9] Enderle MD, Pfohl M, Kellermann N, Haering HU, Hoffmeister HM: Endothelial function, variables of fibrinolysis and coagulation in smokers and healthy controls. *Haemostasis* 2000, 30, 149–158.
- [10] Mustonen P, Lepantelo M, Lassila R: Physical exertion induces thrombin formation and fibrin degradation in patients with peripheral atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998, 18, 244–249.
- [11] Lins M, Arendt T, Deutschmann A, Dieszbrock O, Steen U, Bruhn H: Effect of exercise tolerance test on hemostasis in patients with and without coronary heart disease. *Med Clin* 2000, 95, 14–19.

- [12] **Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC** for the European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *New Engl J Med* 1995, 332, 635–641.
- [13] **Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH**: The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992, 326, 310–318.
- [14] **Montes R, Paramo JA, Angles CE, Rocha A**: Development and clinical application of a new ELISA assay to determine plasmin- α_2 -antiplasmin complex in plasma. *Br J Haematol* 1996, 92, 979–985.
- [15] **Cushman M, Lemaitre RN, Kuller LH, Psaty BM, Macy EM, Sharrett A, Tracy R**: Fibrinolytic activation markers predict myocardial infarction in the elderly: the cardiovascular health study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999, 19, 493–498.
- [16] **Redondo M, Carroll VA, Mauron T, Biasiutti FD, Binder B R, Lammle B, Willemin WA.**: Hemostatic and fibrinolytic parameters in survivors of myocardial infarction: a low plasma level of plasmin- α_2 -antiplasmin complex is an independent predictor of coronary re-events. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001, 12, 17–24.
- [17] **van-der-Bom JG, Bots ML, Haverkate F, Meijer P, Hofman A, Kluft C, Grobbee DE**: Activation products of the haemostatic system in coronary, cerebrovascular and peripheral arterial disease. *Thromb Haemost* 2001, 85, 234–239.
- [18] **Suehiro A, Tsujioka H, Yoshimoto H, Higasa S, Kakishita E**: Serum macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) level is elevated in patients with old cerebral infarction related to vascular damage. *Am J Hematol* 1999, 60, 185–190.
- [19] **Ehlermann P, Mirau W, Jahan J, Remppis A, Sheikhezadeh A**: Predictive value of inflammatory and hemostatic parameters, atherosclerotic risk factors, and chest x-ray for aortic arch atheromatosis. *Stroke* 2004, 35, 34–39.
- [20] **Feinberg WM, Macy E, Cornell ES, Nightingale SD, Pearce LA, Tracy RP, Bovill EG**: Plasmin- α_2 -antiplasmin complex in patients with atrial fibrillation. *Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators*. *Thromb Haemost* 1999, 82, 100–103.
- [21] **Ono N, Koyama T, Suehiro A, Oku K, Fujikake K, Kakishita E**: Influence of atrial fibrillation on coagulo-fibrinolytic markers in patients with cerebral infarction. *Int Angiol* 1992, 11, 298–303.
- [22] **Tohgi H, Konno S, Takahashi S, Koizumi D, Kondo R, Takahashi H**: Altered coagulation/fibrinolysis and platelet function in acute thrombotic stroke patients with increased c-reactive protein levels. *Thromb Res* 2000, 100, 373–379.
- [23] **Gosk-Bierska I, Adamiec R, Wysokiński WE**: Plasma plasmin- α_2 -antiplasmin complex in diabetic and non-diabetic patients with peripheral arterial occlusive disease. *Thromb Haemost* 2003, Suppl 961.

Adres do korespondencji:

Izabela Gosk-Bierska
Katedra i Klinika Angiologii Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii AM
ul. Poniatowskiego 2
50-326 Wrocław
e-mail: izagosk@poczta.onet.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 31.01.2005 r.

Po recenzji: 18.03.2005 r.

Zaakceptowano do druku: 15.04.2005 r.

Received: 31.01.2005

Revised: 18.03.2005

Accepted: 15.04.2005