

Marcadores de lesión endotelial implicados en la trombosis y fibrinólisis en la diabetes mellitus

M. RIGLA CROS y A. PÉREZ PÉREZ

Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

La diabetes mellitus es un factor de riesgo conocido de enfermedad vascular. Las primeras fases de esta afección vascular implican la disfunción del endotelio vascular. El estudio funcional del endotelio supone una intervención demasiado laboriosa y costosa para formar parte de la valoración regular del paciente de riesgo. En consecuencia, ha crecido el interés en los últimos años en la valoración de la lesión endotelial por medio de la determinación de diferentes marcadores solubles. Los más estudiados son aquellos marcadores de síntesis predominantemente endotelial implicados en los procesos de trombosis y fibrinólisis. En este artículo se revisan aquellos que se han relacionado con la lesión endotelial en la diabetes: trombomodulina, *tissue factor pathway inhibitor*, factor von Willebrand, activador tisular del plasminógeno e inhibidor del activador del plasminógeno-1.

MARKERS OF ENDOTHELIAL DAMAGE INVOLVED IN THROMBOSIS AND FIBRINOLYSIS IN DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus is a known risk factor for vascular disease. Endothelial damage is an early event in this process. Endothelial dysfunction studies are too expensive and laborious for routine use in at-risk patients. Therefore, in the last few years interest has increased in soluble markers of endothelial damage, particularly in those involved in thrombosis and fibrinolysis. We review the markers of endothelial damage that have been shown to be increased in diabetic patients: thrombomodulin, tissue-type factor pathway inhibitor, von Willebrand factor, tissue plasminogen activator, and plasminogen-activator inhibitor-1.

Key words: Endothelial damage. Diabetes. Thrombomodulin. Tissue factor pathway inhibitor.

La diabetes mellitus (DM) se asocia con un incremento del riesgo de presentar cualquiera de las formas clínicas de la enfermedad vascular arteriosclerótica. Igualmente, puede causar, de forma específica, alteraciones en diversos órganos diana (retina, glomérulo renal, terminaciones nerviosas) mediadas por una afectación microangiopática. La enfermedad cardiovascular, que es de 2 a 5 veces más frecuente que en la población no diabética^{1,2}, constituye la principal causa de muerte en estos pacientes. La coexistencia de otros factores de riesgo cardiovascular no justifica en su totalidad el aumento del riesgo asociado a la diabetes, por lo que es importante estudiar otros factores que puedan estar implicados³. La resistencia a la insulina⁴ y la hiperglucemia⁵, factores característicamente asociados a la diabetes y que contribuyen al desarrollo de angiopatía, se han relacionado con la aparición de lesión endotelial.

El endotelio vascular, situado entre la sangre circulante y el tejido vascular, ejerce un papel fundamental en la modulación de la actividad de ambos. En condiciones normales, el endotelio mantiene los vasos en un estado de relajación, inhibe la actividad trombótica y de las plaquetas y limita el crecimiento del músculo liso vascular⁶. La disfunción endotelial se caracteriza por un desequilibrio en los factores de vasoconstricción y vasodilatación, entre las acciones pro y antitrombótica y entre los promotores e inhibidores de

Palabras clave: Lesión endotelial. Diabetes. Trombomodulina. *Tissue factor pathway inhibitor*.

Correspondencia: Dra. M. Rigla.
Servicio de Endocrinología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.
Av. Sant Antoni M. Claret, 165. 08025 Barcelona. España.

Manuscrito recibido el 2-9-2002; aceptado para su publicación el 25-11-2002.

TABLA 1. Presencia documentada de incrementos de los diferentes marcadores de lesión endotelial en función de: tipo de diabetes, complicaciones vasculares, control glucémico y resistencia a la insulina

Marcador	DM1	DM2	Macroangiopatía	Microangiopatía	Mal control glucémico	Resistencia a la insulina
TM	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí
TFPI	Sí	Sí	No	Sí	Sí	No
vWF	Sí	Sí	Sí	Sí	No	No
PAI-1	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí
t-PA	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí

DM1: diabetes mellitus tipo 1; DM2: diabetes mellitus tipo 2; TM: trombomodulina; TFPI: *tissue factor pathway inhibitor*; vWF: factor von Willebrand; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno-1; t-PA: activador tisular del plasminógeno.

la proliferación de la íntima. Clínicamente esta alteración se traduce, de forma localizada o generalizada, en vasoconstricción y aterotrombosis. Los factores de riesgo cardiovascular clásicos, como hipertensión arterial⁷, dislipemia⁸ y, particularmente, DM⁵, causan, ya desde estadios iniciales, alteración en la función endotelial.

La valoración de la afectación del endotelio tiene, por tanto, un interés evidente en los pacientes con diabetes tanto como medida de riesgo cardiovascular como para evaluar el efecto de diferentes tratamientos. Sin embargo, el estudio de la función endotelial por medio de la respuesta a fármacos vasoactivos tiene el inconveniente de la dificultad de su realización y de las molestias que ocasiona a los sujetos estudiados. Por esta razón, ha despertado un gran interés en los últimos años el estudio de la lesión endotelial por medio de la determinación de marcadores solubles, cuyo incremento en plasma refleja la presencia de lesión del endotelio. Uno de los grupos de sustancias más estudiado es el formado por marcadores implicados en los fenómenos de trombosis y fibrinólisis, puesto que la aterotrombosis forma parte de los mecanismos de oclusión arterial. Esta revisión está centrada en estos marcadores, entre los que destacan el factor von

Willebrand (vWF), la trombomodulina (TM), el *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI), el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y el activador tisular del plasminógeno (t-PA). Todos ellos se han encontrado elevados en diferentes procesos que evolucionan con daño endotelial^{9,10}, así como en pacientes con diversas manifestaciones clínicas de arteriosclerosis^{11,12}. Así mismo, se han relacionado con la presencia de diabetes, existiendo diferencias en cuanto al tipo, al grado de control glucémico y a la presencia de complicaciones microangiopáticas, especialmente la nefropatía (tabla 1).

MARCADORES PLASMÁTICOS DE LESIÓN ENDOTELIAL IMPLICADOS EN LA TROMBOSIS Y LA FIBRINOLISIS

Trombomodulina

La TM es una glucoproteína integrada en la membrana de las células del endotelio vascular. Existe una forma soluble en plasma que mantiene propiedades antitrombóticas y que se considera un marcador de lesión endotelial, puesto que no se secreta en condiciones normales¹³. Además del aclaramiento hepático, su excreción urinaria puede modificar las concentraciones de TM circulante¹⁴. Su principal acción es convertir la trombina de una sustancia procoagulante en anticoagulante (fig. 1), ya que inhibe las acciones procoagulantes de la trombina y provoca que ésta active la proteína C. La proteína C activada, en presencia de la proteína S, inactiva los factores VIIIa y Va, inhibiendo, por tanto, la formación de fibrina.

Se ha confirmado su incremento en procesos que evolucionan con afectación del lecho microvascular, el cual integra la mayor parte de la superficie endotelial. Así, se han descrito concentraciones elevadas de TM en enfermedades del colágeno, microangiopatía diabética, preeclampsia, vasculitis, sepsis y rechazo de trasplante, entre otras enfermedades¹⁵. Igualmente se ha demostrado su liberación a partir de células endoteliales después de incubarse simultáneamente con homocisteína y productos avanzados de glucación¹⁶.

Aunque se acepta que la TM es un marcador de daño endotelial y que éste es un paso inicial necesario en el proceso de arteriosclerosis, los escasos estudios

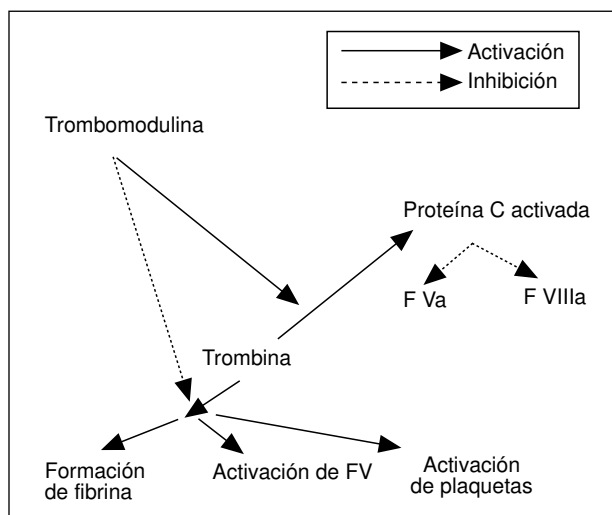


Fig. 1. Esquema de la acción de la trombomodulina, la cual inhibe las acciones procoagulantes de la trombina e induce la activación de la proteína C, potente inhibidor de la coagulación.

clínicos, en general transversales y con un número limitado de pacientes, muestran resultados discordantes. Así, mientras algunos autores observan que las concentraciones elevadas de TM serían un marcador de riesgo independiente de cuadros clínicos agudos coronarios¹⁷ o un marcador de riesgo de nuevos episodios agudos en pacientes que ya han sufrido un infarto¹⁸, otros autores encuentran resultados contrapuestos¹⁹. En el Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study la incidencia de enfermedad coronaria fue menor cuanto mayores eran las concentraciones de TM aunque, una vez excluidos los sujetos que se habían sometido a *bypass* coronario o angioplastia, esta relación dejó de ser significativa¹⁹. Aunque en otros estudios se han relacionado las concentraciones de TM con manifestaciones clínicas de vasculopatía periférica²⁰, no todos los resultados son coincidentes²¹.

Se ha descrito que en pacientes con hipercolesterolemia las concentraciones de TM están incrementadas, pero no sería así en los pacientes con hipertrigliceridemia²². Fármacos capaces de mejorar la función endotelial, como el cilostazol²³ y el enalaprilato²⁴, disminuyen las concentraciones de TM. Así mismo, algunos fármacos pueden disminuir las concentraciones de TM. Así, en pacientes sometidos a trasplante cardíaco, la fluvastatina disminuye las concentraciones de TM de forma significativa²⁵.

Trombomodulina y diabetes mellitus

Las concentraciones de TM en suero y orina de ratas con diabetes producida por estreptozotocina y que presentan lesión del endotelio de la aorta demostrada por microscopia electrónica, son más elevadas que las de ratas de igual edad, no diabéticas y con endotelio indemne²⁶. En pacientes con DM tipo 2 (DM2) se han observado concentraciones elevadas de TM en aquellos con complicaciones microangiopáticas, especialmente albuminuria²⁷⁻³³, y también en pacientes sin complicaciones tardías^{34,35}. Otros autores han encontrado concentraciones elevadas de TM también en pacientes con macroangiopatía³⁶. En pacientes con DM tipo 1 (DM1) se han descrito concentraciones altas de TM^{35,37} en aquellos con una elevada excreción urinaria de albúmina³⁸ y en los que presenta hiperhomocisteinemia³⁹.

La influencia del control glucémico en las concentraciones de TM se ha estudiado sólo marginalmente, sin que se haya encontrado relación entre la HbA_{1c} y la TM circulante^{35,37,40} ni se hayan demostrado modificaciones en las concentraciones de TM después de la optimización del control glucémico³⁷.

La única maniobra terapéutica que ha demostrado disminuir significativamente las concentraciones elevadas de TM observadas en pacientes con DM1, y también en pacientes con DM2, ha sido la práctica regular y programada de ejercicio físico predominantemente aeróbico³⁵. Este estudio fue realizado recientemente por nuestro grupo y consistió en la inclusión en un programa monitorizado de ejercicio físico de 3 me-

ses de duración llevado a cabo en el mismo centro deportivo en todos los casos. En situación basal tanto los pacientes con DM1 como con DM2 mostraron concentraciones elevadas de TM relacionadas con sus respectivos grupos control. Después del programa de ejercicio las concentraciones de TM disminuyeron significativamente, por lo que fueron, finalmente, similares a las del grupo control. El descenso de las concentraciones de TM se correlacionó con el incremento del consumo máximo de oxígeno (VO_{2 máx}), parámetro empleado comúnmente para expresar el grado de entrenamiento.

Recientemente se ha publicado la correlación entre la resistencia insulínica medida por el índice HOMA y la insulinemia basal con las concentraciones de TM en pacientes con DM2 tratados con dieta y/o agentes orales⁴¹.

Tissue factor pathway inhibitor

Este inhibidor del proceso de coagulación inducido por el factor tisular no fue caracterizado hasta 1987⁴², e inicialmente se le denominó *extrinsic pathway inhibitor* o bien inhibidor de la coagulación asociado a lipoproteínas. Su denominación actual se adoptó en 1992. Se trata de una proteasa de 42 kDa de peso molecular compuesta por 276 aminoácidos.

Se sintetiza principalmente en el endotelio⁴³, en el que se almacena en gránulos con polarización apical. Se localiza en tres reservorios intravasculares de los cuales el endotelio constituye el mayor (el 50-80%), seguido del plasma (el 10-50%) y de las plaquetas. Casi todo el TFPI circulante se halla unido a lipoproteínas (más del 90%) por medio del dominio 3, mientras que la fracción libre, la más activa, constituye sólo el 5% de las concentraciones totales⁴⁴. Su acción más importante es la inhibición de la coagulación inducida por el factor tisular. Este proceso se desarrolla en dos fases: en la primera etapa el TFPI se une de manera reversible e inhibe al F Xa. Esta unión produce, en una segunda etapa, la inhibición del complejo F VIIa/factor tisular, de manera irreversible y dependiente del calcio (fig. 2).

En la actualidad no se dispone del resultado de estudios que evalúen si las concentraciones de TFPI se asocian o son predictoras de enfermedad cardiovascular. Sólo en un estudio se han encontrado concentraciones altas de TFPI en pacientes con infarto agudo de miocardio antes y una hora después de practicarles una angioplastia del vaso afectado⁴⁵.

Tissue factor pathway inhibitor y diabetes mellitus

Los escasos estudios sobre la influencia de la DM en las concentraciones de TFPI coinciden en encontrar concentraciones elevadas en los pacientes con DM1^{37,40,46-48} sin y con complicaciones microangiopáticas, correspondiendo los valores más altos a estos últimos y también a pacientes con DM2³⁵, especialmente con nefropatía⁴⁹.

Las concentraciones de TFPI parecen estar relacionadas con el grado de control glucémico en la DM1, con concentraciones mayores en los grupos de peor control glucémico y con una clara correlación entre las concentraciones de TFPI y las de HbA_{1c} en los estudios transversales^{40,47}. Según nuestros resultados los pacientes con DM1 de reciente diagnóstico presentan concentraciones elevadas de TFPI, que se normalizan tras optimizar el control glucémico. La magnitud del descenso de la HbA_{1c} se correlaciona con la disminución de las concentraciones de TFPI³⁷. En pacientes con DM2 con control aceptable y estable, las concentraciones de TFPI son mayores que en controles sanos de igual sexo, edad e índice de masa corporal. La práctica regular de ejercicio físico durante 3 meses consiguió reducir de forma significativa las concentraciones de TFPI en este grupo de pacientes, y reflejaron uno de los posibles mecanismos por los cuales el ejercicio realiza su acción protectora sobre el riesgo cardiovascular³⁵. En nuestro conocimiento no se ha demostrado la existencia de relación entre resistencia a la insulina y concentraciones de TFPI.

El vWF es una glucoproteína sintetizada principalmente en las células del endotelio vascular, de donde se libera de forma bipolar, es decir, al subendotelio y a la luz vascular. A partir de cultivos de células endoteliales se han observado dos formas de secreción: basal (lenta) y en respuesta a estímulos, como los factores que intervienen en la hemostasia (trombina, fibrina y plasmina) y algunos mediadores de la inflamación (histamina, leucotrienos, componentes del complemento y aniones superóxido)⁵⁰. También se sintetiza en los megacariocitos y se almacena en las plaquetas, en los llamados gránulos alfa, aunque en condiciones normales las plaquetas no contribuyen de forma significativa a las concentraciones circulantes. En el plasma el vWF forma un complejo no covalente con el factor VIII, proteína cuya deficiencia causa la hemofilia A. Este complejo circulante es esencial para la actividad del factor VIII, al que protege de su inactivación por proteólisis. Otra función importante del vWF es la formación de agregados de plaquetas en los lugares en los que se produce daño endotelial.

Las concentraciones circulantes de vWF se han propuesto como marcadores de lesión endotelial a raíz de encontrar concentraciones elevadas en situaciones clínicas que evolucionan con denudación del endotelio y exposición del subendotelio (p. ej., vasculitis, insuficiencia renal crónica, insuficiencia respiratoria aguda e hipertensión arterial). Así mismo, los sujetos con enfermedad coronaria⁵¹, vascular periférica⁵² y cerebral⁵³ tienen concentraciones de vWF elevadas en comparación con los controles. Igualmente las concentraciones de vWF parecen ser predictoras de mortalidad en pacientes que han presentado recientemente clínica derivada de enfermedad cardiovascular^{51,53}.

Se ha descrito la existencia de relación entre las concentraciones de vWF y mortalidad cardiovascular. En el Hoorn Study⁵⁴ se siguieron 631 sujetos de entre 50 y 75 años durante 5 años. Las concentraciones de vWF superiores a 1,56 IU/ml se asociaron con una mortalidad cardiovascular tres veces superior (RR = 3,0; IC del 95%, 1,2-7,9). Los resultados fueron similares para el subgrupo de pacientes diabéticos. En el estudio prospectivo multicéntrico Concerted Action Against Thrombosis (ECAT)⁵¹, que incluyó 3.043 pacientes con angor, las concentraciones de vWF fueron predictoras independientes de subsiguientes acontecimientos coronarios agudos tras 2 años de seguimiento.

Factor von Willebrand y diabetes mellitus

Varios autores han observado un incremento en las concentraciones de vWF en pacientes con DM1⁵⁵⁻⁵⁸ y DM2^{56,59} con complicaciones, especialmente microalbuminuria, e incluso se han propuesto como predictores de riesgo de desarrollar nefropatía⁶⁰ o neuropatía⁶¹. Con respecto a las concentraciones circulantes de vWF, la mejora del control glucémico ha sido escasamente estudiada. La mayoría de estudios no encuentran relación entre el control glucémico y las concentraciones de vWF^{37,62}. No se ha demostrado relación entre las concentraciones de vWF y la resistencia a la insulina⁴¹.

MARCADORES IMPLICADOS EN LA FIBRINOLISIS

Activador tisular del plasminógeno e inhibidor del activador del plasminógeno-1

El sistema fibrinolítico transforma el plasminógeno en plasmina en respuesta a la acción del t-PA y de la urokinasa. La plasmina degrada el producto final de la coagulación, la fibrina. El PAI-1 es el inhibidor específico del t-PA. La persistencia de la fibrina en situaciones de hipofibrinólisis (p. ej., en aquellas que implican un incremento del PAI-1) puede ser un factor importante en la facilitación de la aterotrombosis. El t-PA se sintetiza en el endotelio vascular y puede secretarse basalmente y en respuesta a determinados estímulos, como la trombina y la vasopresina⁶³. El PAI-1 puede sintetizarse en hepatoci-

tos, plaquetas, células mesoteliales, monocitos y células musculares lisas, y también en el tejido adiposo, especialmente el visceral⁶⁴.

La medida de las concentraciones de t-PA Ag se sigue utilizando por tener una variabilidad intraindividual menor que las concentraciones de PAI-1⁶⁵.

Activador tisular del plasminógeno e inhibidor del activador del plasminógeno-1 y diabetes mellitus

Tanto las concentraciones de t-PA como las de PAI-1 se asocian con los componentes del síndrome metabólico^{66,67}. Además, la disminución de la resistencia insulínica por medio de dieta hipocalórica, ejercicio o biguanidas produce un descenso paralelo de t-PA Ag⁶⁸ y PAI-1⁶⁹. Por tanto, no es de extrañar que las concentraciones de PAI-1 se hayan encontrado elevadas en pacientes con DM2 obesos, pero no en sujetos con DM2 sin sobrepeso⁷⁰. Algunos autores apuntan que las concentraciones elevadas de PAI-1 tendrían más relación con la obesidad de distribución androide que con la propia diabetes⁷¹.

En los pacientes con DM1 se han observado concentraciones elevadas de actividad PAI-1 y disminuidas de actividad t-PA, tanto en mal como en buen control⁷². Del estudio prospectivo Pittsburg Epidemiology of Diabetes Complications en 454 sujetos con DM1, se deriva que el incremento de complejos t-PA/PAI-1 no se asocia a ninguna complicación de la diabetes específicamente⁷³.

El efecto del control glucémico sobre las concentraciones de t-PA y PAI-1 en pacientes con DM1 ha sido escasamente estudiado⁴⁷, sin observarse beneficios sobre las concentraciones de estos marcadores. Sin embargo, sí se han publicado varios trabajos sobre el efecto de la mejora del control glucémico en sujetos con DM2. En los estudios en los que el mejor control se obtiene mediante fármacos que mejoran la sensibilidad a la insulina, como son la metformina⁷⁴ y la troglitazona⁷⁵, las concentraciones de PAI-1 disminuyen. Sin embargo, cuando la mejora en el control se obtiene por medio de incrementar la insulinemia (sulfonilureas o insulina), las concentraciones de PAI-1 no varían⁷⁶. Estos resultados son concordantes con la asociación demostrada por múltiples estudios entre la resistencia a la insulina (y sus diversas asociaciones clínicas) y las concentraciones de PAI-1⁶⁷.

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES PRÁCTICAS

La importancia de la lesión del endotelio como una fase necesaria y precoz en el desarrollo de arteriosclerosis, así como de microangiopatía en los pacientes con diabetes, está ampliamente aceptada. Por tanto, es de interés indudable llegar a conocer qué mecanismos y qué factores están implicados en este proceso, al igual que lo es clarificar la repercusión que sobre la

lesión endotelial tienen diversas medidas terapéuticas, especialmente aquellas encaminadas a corregir la hiperglucemia. Sin embargo, el estudio directo de la función endotelial es particularmente complejo, a lo que se añade la dificultad en la estandarización de los resultados. De ahí la previsible utilidad del estudio indirecto de la lesión del endotelio por medio de la determinación de las concentraciones de los llamados “marcadores solubles del daño endotelial”. No obstante, existen limitaciones, ya que los diferentes marcadores parecen reflejar diversos mecanismos de producción de la lesión y, en la actualidad, los estudios publicados ofrecen aún una información incompleta.

BIBLIOGRAFÍA

1. Zimmet PZ. Kelly West Lecture 1991. Challenges in diabetes epidemiology- from West to the rest. *Diabetes Care* 1992;15: 232-52.
2. Laakso M, Lehto S. Epidemiology of risk factors for cardiovascular disease in diabetes and impaired glucose tolerance. *Atherosclerosis* 1998;137(Suppl):S65-S73.
3. Zimmet PZ, Alberti KGMM. The changing face of macrovascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus: an epidemic in progress. *Lancet* 1997;350(Suppl 1):1-4.
4. Juhan-Vague I, Thompson SG, Jespersen J. Involvement of hemostatic system in the insulin resistance syndrome. A study of 1500 patients with angina pectoris. *Arterioscler Thromb* 1993; 13:1865-73.
5. Mäkimattila S, Virkamäki A, Groop PH, Cockcroft J, Utriainen T, Fagerudd J, et al. Chronic Hyperglycemia impairs endothelial function and insulin sensitivity via different mechanisms in insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1996;94:1276-82.
6. De Catterina R. Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. *Cur Opin Lipidol* 2000;11:9-23.
7. Panza A, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990;323:22-7.
8. Sorensen KE, Celermajer DS, Georgakopoulos D, Hatcher G, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. *J Clin Invest* 1994;93:50-5.
9. Takahashi H, Ito S, Hanano M, Wada K, Niwano H, Seki Y, et al. Circulating thrombomodulin as a novel endothelial cell marker: comparison of its behavior with von Willebrand factor and tissue-type plasminogen activator. *Am J Hematol* 1992;41: 32-9.
10. Jansson JH, Norberg B, Nilsson TK. Impact of acute phase on concentrations of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor in plasma after deep-vein thrombosis or open-heart surgery. *Clin Chem* 1989;35:1544-5.
11. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *N Engl J Med* 1995;332:635-41.
12. Blann AD, McCollum CN. von Willebrand factor and soluble thrombomodulin as predictors of adverse events among subjects with peripheral or coronary atherosclerosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999;10:375-80.
13. Ishii H, Uchiyama H, Kazama M. Soluble thrombomodulin antigen in conditioned medium is increased by damage of endothelial cells. *Thromb Haemost* 1990;63:157-62.
14. Ishii H, Majerus PW. Thrombomodulin is present in human plasma and urine. *J Clin Invest* 1985;76:2178-81.
15. Morikawa Y, Morikawa A, Makino I. Relationship of thyroid states and serum thrombomodulin (TM) levels in Graves' disease: TM, a possible new marker of the peripheral activity of thyroid hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:609-14.
16. Reverter JL, Reverter JC, Tàssies D, Rius F, Monteagudo J, Rubiés-Prat J, et al. Thrombomodulin and induced tissue factor expression on monocytes as markers of diabetic microangiopathy: A prospective study on hemostasis and lipoproteins in insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hematol* 1997;56: 93-9.
17. Blann AD, McCollum CN. von Willebrand factor and soluble thrombomodulin as predictors of adverse events among subjects with peripheral or coronary atherosclerosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999;10:375-80.
18. Blann AD, Amiral J, McCollum CN. Prognostic value of increased soluble thrombomodulin and increased soluble E-selectin in ischaemic heart disease. *Eur J Haematol* 1997a;59:115-20.
19. Salomaa V, Matei C, Alecsik N, Sansores-García L, Folsom AR, Juneja H, et al. Soluble thrombomodulin as a predictor of incident coronary heart disease and symptomless carotid artery atherosclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: a case-cohort study. *Lancet* 1999;353:1729-34.
20. Matsuoka T, Yamasaki Y, Watari T, Kubota M, Kamada T. Serum soluble thrombomodulin as a marker of diabetic macroangiopathy. *Diabetes* 1995;18:731.
21. Blann AD, Farrell A, Picton A, McCollum CN. Relationship between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery disease. *Thromb Res* 2000;97:209-16.
22. Constans J, Blann AD, Guerin V, Conri C. Soluble thrombomodulin in hypercholesterolemic patients. *Lancet* 2000;355: 145.
23. Tani N, Hada K, Kitami A, Nakano M, Takahashi H, Ito S, et al. Effects of salicylic acid and cilostazol administration on serum thrombomodulin concentration in diabetic patients. *Thromb Res* 1993;69:153-8.
24. Boldt J, Papsdorf M, Kumle B, Piper S, Hempelmann G. Influence of angiotensin-converting enzyme inhibitor enalaprilat on endothelial-derived substances in the critically ill. *Crit Care Med* 1998;26:1663-70.
25. Ambrosi P, Aillaud MF, Habib G, Kreitmman B, Metras D, Luccioni R, et al. Fluvastatin decreases soluble thrombomodulin levels in cardiac recipients. *Thromb Haemost* 2000;83:46-8.
26. Nakano M, Furutani M, Shinno H, Ikeda T, Oida K, Ishii H. Elevation of soluble thrombomodulin antigen levels in the serum and urine of streptozotocin-induced diabetes model rats. *Thromb Res* 2000;99:83-91.
27. Tanaka A, Ishii H, Hiraishi S, Kazama M, Maezawa H. Increased thrombomodulin values in plasma of diabetic men with microangiopathy. *Clin Chem* 1991;37:269-72.
28. Iwashima Y, Sato T, Watanabe K, Ooshima E, Hiraishi S, Ishii H, et al. Elevation of plasma thrombomodulin level in diabetic patients with early diabetic nephropathy. *Diabetes* 1990;39: 983-8.
29. Sumida Y, Wada H, Fujii M, Mori Y, Nakasaki T, Shimura M, et al. Increased soluble fibrin monomer and soluble thrombomodulin levels in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Blood Coag Fibrinolysis* 1997;8:303-7.
30. Gabazza EC, Takeya H, Deguchi H, Sumida Y, Taguchi O, Murata K, et al. Protein C activation in NIDDM patients. *Diabetologia* 1996;39:1455-61.
31. Oida K, Takai H, Maeda H, Takahashi S, Tamai T, Nakai T, et al. Plasma thrombomodulin concentration in diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1990;10:193-6.
32. Shimano H, Takahashi K, Kawakami M, Gotoda T, Harada K, Shimada M, et al. Elevated serum and urinary thrombomodulin levels in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus.

- Clin Chim Acta 1994;225:89-96.
33. Inukai T, Fujiwara Y, Tayama K, Aso Y, Takemura Y. Clinical significance of urinary and serum thrombomodulins in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1996;33:99-104.
34. Aso Y, Inukai T, Takemura Y. Mechanisms of elevation of serum and urinary concentrations of soluble thrombomodulin in diabetic patients: possible applications as a marker for vascular endothelial injury. *Metabolism* 1998;47:362-5.
35. Rigla M, Fontcuberta J, Mateo J, Caixas A, Pou JM, de Leiva A, et al. Physical training decreases plasma thrombomodulin in type I and type II diabetic patients. *Diabetologia*. 2001;44:693-9.
36. Gabat S, Keller C, Kempe HP, Amiral J, Ziegler R, Ritz E, et al. Plasma thrombomodulin: a marker for microvascular complications in diabetes mellitus. *Vasa* 1996;25:233-41.
37. Rigla M, Mateo J, Fontcuberta J, Souto JC, de Leiva A, Perez A. Normalisation of tissue factor pathway inhibitor activity after glycaemic control optimisation in type 1 diabetic patients. *Thromb Haemost* 2000;84:223-7.
38. Gruden G, Pagano G, Romagnoli R, Frezet D, Olivetti C, Cavallo-Perin P. Thrombomodulin levels in insulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *Diabet Med* 1995;12:258-60.
39. Hoffman MA, Kohl B, Zumbach MS, Borcea V, Bierhaus A, Henkels M, et al. Hyperhomocyst(e)inemia and endothelial dysfunction in IDDM. *Diabetes Care* 1998;21:841-8.
40. Leurs PB, van Oerle R, Hamulyak K, Wolffenbuttel BHR. Tissue factor pathway inhibitor activity in patients with IDDM. *Diabetes* 1995;44:80-4.
41. Aso Y, Fujiwara Y, Tayama K, Takanashi K, Inukai T, Takemura Y. Relationship between plasma soluble thrombomodulin levels and insulin resistance syndrome in type 2 diabetes: a comparison with von Willebrand factor. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001;109:210-6.
42. Brozle GJ, Miletich JP. Characterization of the inhibition of tissue factor in serum. *Blood* 1987;69:150-5.
43. Bajaj MS, Kuppaswamy MN, Saito H, Spitzer SG, Bajaj SP. Cultured normal human hepatocytes do not synthesize lipoprotein-associated coagulation inhibitor: evidence that endothelium is the principal site of its synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:8869-73.
44. Lesnik P, Vonica A, Guerin M, Moreau M, Chapman MJ. Anticoagulant activity of tissue factor pathway inhibitor in human plasma is preferentially associated with dense subpopulations of LDL and HDL and with Lp(a). *Atheroscler Thromb* 1993;1066-75.
45. Kamikura Y, Wada H, Yamada A, Shimura M, Hiyoyama K, Shiku H, et al. Increased tissue factor pathway inhibitor in patients with acute myocardial infarction. *Am J Hematol* 1997;55:183-7.
46. Leurs PB, van Oerle R, Wolffenbuttel BHR, Hamulyak K. Increased tissue factor pathway inhibitor (TFPI) and coagulation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 1997;77:472-6.
47. Yokoyama H, Myrup B, Rossing P, Ostergaard PB. Increased tissue factor pathway inhibitor activity in IDDM patients with nephropathy. *Diabetes Care* 1996;19:441-5.
48. Huvers FC, De Leeuw PW, Houben AJ, De Haan CH, Hamulyak K, Schouten H, et al. Endothelium-dependent vasodilatation, plasma markers of endothelial function, and adrenergic vasoconstrictor responses in type 1 diabetes under near-normoglycemic conditions. *Diabetes* 1999;48:1300-7.
49. Kario K, Matsuo T, Kobayashi H, Matsuo M, Sakata T, Miyata T. Activation of tissue factor-induced coagulation and endothelial cell dysfunction in non-insulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1114-20.
50. Manucci PM. Von Willebrand factor: a marker of endothelial damage? *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1359-62.
51. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *N Engl J Med* 1995;332:635-41.
52. Blann AD, Seigneur M, Steiner M, Boisseau MR, McCollum CN. Circulating endothelial cell markers in peripheral vascular disease: relationship to the location and extent of atherosclerotic disease. *Eur J Clin Invest* 1997;27:916-21.
53. Catto AJ, Carter AM, Barrett JH, Bamford J, Rice PJ, Grant PJ. Von Willebrand factor and factor VIII: C in acute cerebrovascular disease: relationship to stroke, subtype and mortality. *Thromb Haemost* 1997;77:1104-8.
54. Jager A, van Hinsberg VW, Kostense PJ, Emeis JJ, Yudkin JS, Nijpels G, et al. Von Willebrand factor, C-reactive protein, and 5-year mortality in diabetic and nondiabetic subjects: the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:3071-7.
55. Schalkwijk CG, Poland DC, van Dijk W, Kok A, Emeis JJ, Drager AM, et al. Plasma concentration of C-reactive protein is increased in type I diabetic patients without clinical macroangiopathy and correlates with markers of endothelial dysfunction: evidence for chronic inflammation. *Diabetologia* 1999;42:351-7.
56. Knöbl P, Schernthaner G, Schnack C, Pietschmann P, Griesmacher A, Prager R, et al. Thrombogenic factors are related to urinary albumin excretion rate in type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1993;36:1045-50.
57. Jensen T, Bjerre-Knudsen J, Feldt-Rasmussen B, Deckert T. Features of endothelial dysfunction in early diabetic nephropathy. *Lancet* 1989;1(8636):461-3.
58. Myrup B, Rossing P, Jensen T, Gram J, Klufft C, Jespersen J. Procoagulant activity and intimal dysfunction in IDDM. *Diabetologia* 1995;38:73-8.
59. Nielsen S, Schmitz A, Bacher T, Rehling M, Ingerslev J, Mogensen CE. Transcapillary escape rate and albuminuria in Type II diabetes. Effects of short-term treatment with low-molecular weight heparin. *Diabetologia* 1999;42:60-7.
60. Stehouwer CDA, Stroes ESG, Hackeng WHL, Mulder PGH, Den Ottolander GJH. Von Willebrand factor and development of diabetic nephropathy in IDDM. *Diabetes* 1991;40:971-6.
61. Plater ME, Ford I, Dent MT, Preston FE, Ward JD. Elevated von Willebrand factor antigen predicts deterioration in diabetic peripheral nerve function. *Diabetologia* 1996;39:336-43.
62. Vukovich TC, Schernthaner G, Knöbl PN, Hay U. The effect of near-normoglycaemic control on plasma factor VII / von Willebrand factor and fibrin degradation products in insulin-dependent diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;69:84-89.
63. Loscalzo J, Braunwald E. Tissue plasminogen activator. *N Engl J Med* 1988;319:925-31.
64. Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbone 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.
65. Jansson JH, Norberg B, Nilsson TK. Impact of acute phase on concentrations of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor in plasma after deep-vein thrombosis or open-heart surgery. *Clin Chem* 1989;35:1544-5.
66. Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P. Increased plasma plasminogen activator inhibitor 1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. *Diabetologia* 1991;34:457-62.
67. Juhan-Vague I, Thompson SG, Jespersen J. Involvement of hemostatic system in the insulin resistance syndrome. A study of 1500 patients with angina pectoris. *Arterioscler Thromb* 1993;13:1865-73.
68. Juhan-Vague I, Aillaud MF, Alessi MC, Vague P, Rudnicki A,

- Safar M, et al. Fibrinolytic anomalies associated with insulin resistance. Effect of Metformin. Result of the BIGPRO trial. *Fibrinolysis* 1994;8(Suppl 1):20-8.
69. Testa R, Bonfigli AR, Piantanelli L, Manfrini S, Testa I, Gregorio F. Relationship between plasminogen activator inhibitor type-1 plasma levels and the lipoprotein(a) concentrations in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1996;33:111-8.
 70. McGill JB, Schneider DJ, Arfken CL, Lucore CL, Sobel BE. Factors responsible for impaired fibrinolysis in obese subjects and NIDDM patients. *Diabetes* 1994;43:104-9.
 71. Bastard JP, Bruckert E, Robert JJ, Ankri A, Grimaldi A, Jardel C, et al. Are free fatty acids related to plasma plasminogen activator inhibitor 1 in android obesity? *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995;19:836-8.
 72. Carmassi F, Morale M, Puccetti R, De Negri F, Monzani F, Navalesi R, et al. Coagulation and fibrinolytic system impairment in insulin dependent diabetes mellitus. *Thromb Res* 1992;67:643-54.
 73. Maser RE, Ellis D, Erbey JR, Orhd TJ. Do tissue plasminogen activator- plasminogen activator inhibitor-1 complexes relate to the complications of insulin-dependent diabetes mellitus? *Pittsburg Epidemiology of Diabetes Complications Study. J Diabetes Complications* 1997;11:243-9.
 74. Grant PJ. The effects of medium-dose metformin therapy on cardiovascular risk factors in patients with type II diabetes. *Diabetes Care* 1996;19:64-6.
 75. 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.
 76. Vukovich TC, Proidl S, Knöbl P, Teufelsbauer H, Schnack C, Scherntaner G. The effect of insulin treatment on the balance between tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in type 2 diabetic patients. *Thromb Haemost* 1992;68:253-6.