

## Originales

### ENDOTHELIAL DYSFUNCTION, CORONARY HEART DISEASE AND DIABETES MELLITUS

**Background and objective:** Diabetes mellitus is a cardiovascular risk factor that promotes the development of endothelial injury, which is fundamental in the physiopathology of ischemic heart disease. Therefore, investigation of markers indicating the presence of endothelial injury in diabetic patients would be useful.

**Patients and method:** We performed an observational study of 25 patients with ischemic heart disease and coronary atherosclerosis, diagnosed by coronary angiography, whose only cardiovascular risk factor was diabetes mellitus (group I). There were 2 control groups, one with 10 diabetic controls without ischemic heart disease or other cardiovascular risk factors (group II) and another group with 17 healthy controls (group III). Activity of von Willebrand factor (vWF) antigen, as a marker of endothelial injury, was compared among the groups. Student's t-test, the  $\chi^2$  test, the coefficient of correlation, and multiple regression analysis, with a 95% confidence interval, were used in the statistical analysis.

**Results:** Diabetic patients had higher vWF levels than healthy controls. Diabetic patients with coronary atherosclerosis had higher vWF levels than diabetics without vascular complications. There was a correlation between vWF and fibrinogen concentrations in group I.

**Conclusions:** vWF is a risk factor for the development of endothelial injury in diabetics and is also a marker of risk for the development of vascular complications in these patients.

**Key words:** Von Willebrand factor. Complicated diabetes. Coronary heart disease.

## Disfunción endotelial, enfermedad coronaria y diabetes mellitus

BEATRIZ VIRGÓS SEÑOR<sup>a</sup>, AGUSTÍN CARLOS NEBRA PUERTAS<sup>a</sup>, MIGUEL ANGEL SUÁREZ PINILLA<sup>b</sup>, ROSA CORNUDELLA LACASA<sup>c</sup>, PILAR PORTERO PÉREZ<sup>d</sup> Y ALEJANDRA MORÓN GIMÉNEZ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. España.

<sup>b</sup>Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Clínico de Zaragoza. Zaragoza. España.

<sup>c</sup>Servicio de Hematología. Hospital Clínico de Zaragoza. Zaragoza. España.

<sup>d</sup>Servicio de Cardiología. Hospital Clínico de Zaragoza. Zaragoza. España.

**Fundamento y objetivo:** La diabetes mellitus es un factor de riesgo cardiovascular que propicia la aparición de una lesión endotelial, fundamental en la fisiopatología de la cardiopatía isquémica, por lo que sería útil la investigación de marcadores que indiquen la lesión en pacientes diabéticos.

**Pacientes y método:** Estudio observacional, realizado con 25 pacientes diagnosticados de cardiopatía isquémica y alteración endotelial confirmada mediante coronariografía, cuyo único factor de riesgo cardiovascular es la diabetes mellitus (grupo I). Tomamos 2 grupos control, uno de 10 sujetos diabéticos sin más factores de riesgo ni clínica de cardiopatía isquémica (grupo II), y otro de 17 sujetos sanos sin factores de riesgo cardiovascular (grupo III). Comparamos entre los grupos la actividad del factor de von Willebrand (FvW) antigénico, como marcador de lesión endotelial. Empleamos como herramientas estadísticas la prueba de la t de Student y la de la  $\chi^2$ , el coeficiente de correlación y análisis de regresión múltiple, con un intervalo de confianza del 95%.

**Resultados:** Los pacientes diabéticos tienen mayores concentraciones de FvW que los sujetos sanos; además, los sujetos con cardiopatía isquémica presentan valores más elevados que los diabéticos sin complicaciones vasculares. Se comprueba cierto grado de relación entre las concentraciones de FvW y fibrinógeno en el grupo I.

**Conclusiones:** El FvW es un factor de riesgo de lesión endotelial en diabéticos, y un marcador de riesgo de complicaciones vasculares.

*Palabras clave:* Factor von Willebrand. Diabetes complicada. Enfermedad coronaria.

## INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es uno de los factores de riesgo cardiovascular que participa tanto en el origen fisiopatológico como en la evolución de la cardiopatía isquémica (CI). Los diversos factores de riesgo cardiovascular acaban produciendo la aparición de

Correspondencia: Dra. B. Virgós Señor.  
 Av. de Valencia, 51-53, Esc. 1.<sup>a</sup>, piso 8.<sup>o</sup>-B. 5005 Zaragoza. España.  
 Correo electrónico: s976358224@wanadoo.es

Manuscrito recibido el 6-12-2006 y aceptado para su publicación el 26-7-2007.

una lesión endotelial, que está subyacente en la inmensa mayoría de los pacientes con CI<sup>1,2</sup>.

Se han propuesto distintos marcadores para detectar una lesión endotelial, entre ellos el aumento de las concentraciones plasmáticas del factor de von Willebrand (FvW)<sup>3-5</sup>. Éste es una molécula proteica compleja, mensurable en plasma en el que se encuentra habitualmente ligada al factor VIII, y que también se localiza en el endotelio y el subendotelio, y en las plaquetas. Posee un peso molecular elevado, presenta una disposición proteica multimérica y afecta a 2 funciones hemostáticas principales; se encuentra implicado en la adhesión de las plaquetas al colágeno de las estructuras subendoteliales y mantiene estables las concentraciones plasmáticas del factor VIII<sup>6,7</sup>.

Observada la relación entre la diabetes, la génesis de una lesión endotelial y la CI, realizamos un estudio en 25 pacientes diagnosticados de CI y sometidos a coronariografía, cuyo único factor de riesgo cardiovascular fue la diabetes; en estos pacientes cuantificamos las concentraciones de FvW y de hemoglobina glucosilada (HbA<sub>1C</sub>). Las comparamos con las que presentaban los pacientes en dos grupos control: uno de 10 sujetos diabéticos sin más factores de riesgo cardiovascular ni clínica indicativa de CI, y otro de 17 sujetos sanos sin factores de riesgo cardiovascular. El objetivo del trabajo fue estudiar si los sujetos diabéticos con enfermedad coronaria, y teóricamente libres de otros factores de riesgo cardiovascular, presentan concentraciones elevadas de FvW, lo que reflejaría la lesión endotelial subyacente en la CI.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio observacional de casos y controles para evaluar si la actividad del FvW antigenico en plasma es mayor en pacientes con CI y DM (tipo 1 y tipo 2), comparada con la que presentan los sujetos diabéticos sin CI ni otros factores de riesgo cardiovascular conocidos y en sujetos sanos.

Se definió el tabaquismo como factor de riesgo cuando el hábito era activo en el momento del estudio, o bien si los pacientes habían fumado al menos 10 cigarrillos/día en los 5 años previos. Se aceptó que beber alcohol se podría interpretar como factor de riesgo cardiovascular en caso de ingesta diaria de al menos 50 g/día de etanol. Finalmente, se consideró como dislipémicos y/o hipertensos a los pacientes en tratamiento médico previo en el momento de su inclusión en el estudio.

El grupo de estudio (grupo I) estaba formado por 25 pacientes diabéticos diagnosticados de CI, sin más factores de riesgo cardiovascular conocidos, y libres de cualquier otra enfermedad que pudiera alterar los marcadores estudiados; la selección de enfermos se efectuó según su historia clínica, y tras realizar una analítica sanguínea en la que se incluyeron las concentraciones de colesterol total y de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (cHDL). Se seleccionó a los 25 pacientes con estas características de entre todos los que se sometieron a un cateterismo cardíaco durante un período de 40 meses, en un hospital de tercer nivel.

Para establecer que la DM es un factor de riesgo cardiovascular, incluimos solamente a los sujetos a quienes se ha-

bía instaurado tratamiento médico por esta enfermedad desde, al menos, los 6 meses previos al estudio. De los 25 sujetos, 17 (68%) eran tratados con insulina.

A todos los pacientes del grupo I se les realizó una coronariografía por inestabilización clínica de su CI. Se consignaron los distintos tratamientos médicos que tomaban los pacientes, así como el número de las lesiones coronarias significativas (mayores del 60% de la luz del vaso) detectadas en la coronariografía.

Se tomaron 2 grupos control: el grupo II, formado por 10 sujetos diabéticos sin CI, sin enfermedades concomitantes que pudieran modificar los valores del FvW, ni otros factores de riesgo cardiovascular conocidos, y el grupo III, compuesto por 17 sujetos sanos, sin factores de riesgo cardiovascular conocidos. A todos los pacientes se les extrae una muestra sanguínea, mediante venopunción atraumática; en los pacientes del grupo I la extracción se realizó en los momentos previos a la coronariografía. La sangre extraída se recogió en tubos Vacutainer® de 10 ml con citrato trisódico al 3,8% como anticoagulante. Inmediatamente después de la extracción de la muestra, ésta fue centrifugada durante 10 min a 3.600 rpm; el plasma así obtenido se congeló a una temperatura de -80 °C hasta su análisis.

La determinación del FvW antigenico se practicó en un autoanalizador ACL Futura, mediante turbidimetría de partículas de látex (prueba de IL-Test®, Marburg, Alemania). Los valores de normalidad aceptados por el fabricante se encuentran entre el 41 y el 150%. Estas pruebas se sometieron a control de calidad interno en cada serie de determinaciones. Los valores de medida de las muestras sólo se aceptaron si el valor de control estuvo en el margen de confianza, validando así los resultados.

Se realizó una determinación de HbA<sub>1C</sub> mediante ELISA por turbidimetría (BioSystems®, calibración NGSP/DCCT; rango normalidad, 4-6%) a los sujetos de los grupos I y II, y a todos los sujetos incluidos en los 3 grupos se les hizo un estudio de coagulación estándar, que incluyó recuento plaquetario, concentraciones de fibrinógeno, actividad de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activada. Para su medición se empleó un equipo autoanalizador ACL Futura, con los reactivos de IL-Test®, IL PT-Fib HS, IL APTT-SP e IL Test fibrinogen-c.

Se determinaron las concentraciones séricas de colesterol (total y cHDL) a todos los sujetos incluidos en los 3 grupos del estudio.

Como herramientas estadísticas para comparar los datos cuantitativos entre ambos grupos, tras aplicar el test de Kolmogorov-Smirnov para comprobar la distribución normal de los datos, aplicamos el test de la t de Student o el de Wilcoxon en función de la distribución de datos; estas herramientas estadísticas monovariable se usaron en comparaciones 2 a 2. Para comparar datos cualitativos utilizamos la prueba de la  $\chi^2$ . En todos los casos utilizamos un intervalo mínimo de confianza del 95%. Además, realizamos un subanálisis entre los pacientes del grupo I, estudiando la posible relación de los tratamientos médicos y el número de lesiones coronarias con los valores de FvW. Para ello aplicamos test de regresión múltiple y el coeficiente de correlación de Pearson.

## RESULTADOS

En la tabla 1 se puede observar las características generales de los 3 grupos. No hubo diferencias signifi-

TABLA 1. Características generales de los grupos estudiados

	Grupo I (n = 25)	Grupo II (n = 10)	Grupo III (n = 17)	p
Edad (años)	53,8 ± 8	55,3 ± 10	50,2 ± 7	NS
Proporción de varones	84%	70%	76%	NS
Diabetes tipo I	76% (n = 19)	80% (n = 8)	—	NS
Actividad del FvW (%)	219 ± 89	127 ± 20	68 ± 15	< 0,05 <sup>a</sup>
Fibrinógeno (mg/dl)	475,3 ± 178,1	401,5 ± 106,5	295,6 ± 66,8	< 0,05 <sup>b</sup>
Plaquetas (miles/μl)	159.440 ± 47.037	161.200 ± 40.325	257.000 ± 52.172	< 0,05 <sup>b</sup>
Actividad de protrombina (%)	88,6 ± 9,0	88,2 ± 11,7	98 ± 12	< 0,05 <sup>b</sup>
aTTP (s)	37,08 ± 12,2	36,94 ± 14,01	29,7 ± 3,19	< 0,05 <sup>b</sup>
Colesterol total (mg/dl)	187,4 ± 34	178,3 ± 30	193,2 ± 47	NS
cHDL (mg/dl)	37,3 ± 9,10	38,9 ± 13,10	38,23 ± 10,58	NS
HbA <sub>1C</sub>	7,68 ± 1,12	6,04 ± 0,8	4,64 ± 0,8	< 0,05 <sup>a</sup>
Antiagregación	100% (25)	—	—	—
IECA	52% (13)	—	—	—
Bloqueadores betaadrenérgicos	20% (5)	—	—	—
Antagonistas del calcio	52% (13)	—	—	—
Nitritos	84% (21)	—	—	—
Varios fármacos	100% (25)	—	—	—

<sup>a</sup>Prueba de la t de Student entre los 3 grupos.

<sup>b</sup>Prueba de la t de Student entre el grupo III y los otros 2.

aTTP: tiempo de tromboplastina activada; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; FvW: factor de von Willebrand; HbA<sub>1C</sub>: hemoglobina glucosilada; IECA: inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina; NS: no significativo.

cativas en las edades ni en la distribución de sexos entre los 3 grupos, ni en la proporción de diabéticos tipo 1 entre los grupos I y II. En la misma tabla también se hace referencia al tratamiento médico seguido por los sujetos del grupo I.

La comparación de los valores del porcentaje de actividad del FvW antigénico y de los diversos parámetros del estudio estándar de coagulación, así como los resultados del estudio lipídico y de las concentraciones de HbA<sub>1C</sub>, también se muestra en la tabla 1. Apreciamos las diferencias en los valores de los distintos parámetros analizados en los 3 grupos; los diabéticos tienen concentraciones de FvW y de HbA<sub>1C</sub> mayores que las de los sanos, y los diabéticos con CI tienen las más altas.

En el grupo I, el análisis de correlación entre los valores de FvW y los parámetros del estudio habitual de coagulación (incluido recuento plaquetario), las concentraciones de HbA<sub>1C</sub>, y el colesterol total y el cHDL, sólo fue significativo entre el FvW y las concentraciones de fibrinógeno plasmático ( $r = 0,51$ ;  $p = 0,008$ ). Un resultado similar se obtuvo en los sujetos del grupo II ( $r = 0,738$ ;  $p = 0,015$ ), entre los valores de fibrinógeno y de FvW. Por el contrario, en los sujetos sanos del grupo III, no se confirmó correlación alguna. El último estudio de este tipo lo efectuamos entre los valores de FvW y el número de lesiones coronarias encontradas, sin significación estadística ( $r = 0,071$ ;  $p = 0,736$ ).

El estudio multivariable se efectuó con un análisis de regresión múltiple en los grupos I y II, tomando el FvW como variable dependiente, y como independientes, las diferentes variables predictoras expuestas en las tablas 2, 3 y 4; solamente las concentraciones de fibrinógeno guardaron cierta relación con los valores de FvW en el grupo I.

## DISCUSIÓN

Presentamos un estudio descriptivo que muestra una alteración endotelial, cuyo reflejo analítico es una mayor actividad en las concentraciones de FvW antigénico, en sujetos diabéticos, con CI y lesión endotelial demostrada.

Una de las limitaciones importantes del trabajo presentado es el número de sujetos incluidos; limitación justificable por los estrictos criterios de inclusión, ya que no es sencillo encontrar sujetos diabéticos, sin otro factor de riesgo cardiovascular, y que además hayan sido sometidos a coronariografía. La potencia de las herramientas estadísticas utilizadas también está en relación con el número de sujetos de los estudios; por ejemplo, la casuística recogida limita la aplicación de análisis multivariados más completos que los empleados, con lo que los resultados presentados deben de circunscribirse a las características de la serie presentada.

Otra limitación estaría relacionada con el hecho de no haber diferenciado entre los sujetos con diabetes insulinodependiente y no insulinodependiente, puesto que esta diferenciación podría implicar un sesgo de selección, sesgo justificado para evitar la atomización de los resultados, dada la casuística recogida.

Tampoco podemos obviar que, dada la metodología de recogida de datos, en la que sólo se aceptaba la dislipemia como factor de riesgo cardiovascular conocido si los sujetos estaban recibiendo tratamiento médico, es probable que se incluyera en el estudio a pacientes con alteraciones en sus concentraciones de lípidos. A este respecto, observamos que las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad (HDL) media de los 3 grupos es inferior a 40 mg/dl, lo que ya implica un factor de riesgo per se. No haber cuantificado los valores de triglicéridos también implica un

TABLA 2. Análisis de regresión múltiple: grupo I

Ecuación de regresión:					
$FvW = -179 + 0,254 \text{ fibrinógeno} - 0,33 \text{ aTPP} + 2,16 \text{ actividad de protrombina} + 0,000361 \text{ plaquetas} + 3,02 \text{ cHDL} - 0,630 \text{ colesterol} + 3,9 \text{ HbA}_{1c} + 9,1 \text{ lesiones significativas en la angiografía}$					
Predictor	Coeficiente	EE del coeficiente	t		p
Constante	-179,5	268,4	-0,67		0,513
Fibrinógeno	0,2539	0,114	2,22		0,041
aTPP	-0,334	1,452	-0,23		0,821
Actividad de protrombina	2,158	2,287	0,94		0,359
Plaquetas	0,0003609	0,0004659	0,77		0,450
cHDL	3,016	2,179	1,38		0,185
Colesterol	-0,6304	0,5229	-1,21		0,245
HbA <sub>1c</sub>	3,92	19,09	0,21		0,840
Lesiones significativas en la angiografía	9,07	21,83	0,42		0,683
$S = 77,5738; R^2 = 49,7\%; R^2 \text{ ajustada} = 24,6\%$					
Análisis de la variancia					
Fuente	DF	SS	MS	F	p
Regresión	8	95.242	11.905	1,98	0,117
Error residual	16	96.283	6.018		
Total	24	191.525			

aTPP: tiempo de tromboplastina parcial activado; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas alta densidad; DF: grados de libertad; EE: error estándar; FvW: factor de von Willebrand; HbA<sub>1c</sub>: hemoglobina glucosilada.

TABLA 3. Análisis de regresión múltiple: grupo I y tratamiento médico

Ecuación de regresión:					
$FvW = 225 + 24,5 \text{ antagonistas del calcio} + 20,5 \text{ bloqueadores betaadrenérgicos} - 25,4 \text{ nitritos} + 5,1 \text{ IECA}$					
Predictor	Coeficiente	EE del coeficiente	t		p
Constante	224,97	82,33	2,73		0,013
Antagonistas del calcio	24,53	46,33	0,53		0,602
Bloqueadores betaadrenérgicos	20,50	50,99	0,40		0,692
Nitritos	-25,39	77,53	-0,33		0,747
IECA	5,06	50,51	0,10		0,921
$S = 96,2584; R^2 = 3,2\%; R^2 \text{ ajustada} = 0,0\%$					
Análisis de la variancia					
Fuente	DF	SS	MS	F	p
Regresión	4	6.212	1.553	0,17	0,952
Error residual	20	185.313	9.266		
Total	24	191.525			

DF: grados de libertad; EE: error estándar; FvW: factor de von Willebrand; IECA: inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina.

sesgo de selección, al infravalorar el antecedente de dislipemia.

A tenor de los resultados de nuestro trabajo, podemos afirmar que los diabéticos presentan unas concentraciones más elevadas de FvW que las de las personas sanas, y además éstas son mayores en los diabéticos con lesión endotelial que en los diabéticos sin complicaciones vasculares demostradas. Este resultado coincide con los presentados por diversos autores<sup>8-11</sup>, que también encuentran mayores concentraciones de FvW en pacientes diabéticos que en sujetos sanos, y lo relacionan con las alteraciones endoteliales que se producen en las personas diabéticas, de manera que el FvW es más elevado en los diabéticos con complicaciones vasculares. En esta línea argumental, nuestro trabajo aporta como dato importante la constatación de una lesión endotelial visualizada mediante la coronariografía; el hecho de que no se demuestre una correlación

directa entre las concentraciones de FvW y el número de lesiones coronarias demostradas indicaría que el FvW podría tener una alta especificidad para indicar la presencia de una lesión endotelial, pero no la suficiente sensibilidad como para discriminar la intensidad de la alteración una vez que ésta se ha producido, resultado coincidente con el obtenido por Chann et al<sup>12</sup> quienes no encuentran relación directa entre los valores de FvW y la gravedad de las lesiones coronarias, midiendo el grado de calcificación, en una serie de 181 pacientes diabéticos. No obstante, el hecho de no haber efectuado estudios más completos en nuestros pacientes diabéticos para detectar alteraciones microvasculares (microalbuminuria, fondo de ojo, etc.), debe ser tenido en cuenta, puesto que no podemos discriminar hasta qué punto la elevación en los valores de FvW es debida a la alteración endotelial de la CI o a la enfermedad microvascular que podrían tener los pacientes.

TABLA 4. Análisis de regresión múltiple, grupo II y hemostasia

Ecuación de regresión: FvW = 163 – 0,053 actividad de protrombina + 0,171 fibrinógeno – 0,118 aTPP – 0,000113 plaquetas – 0,455 colesterol – 0,20 cHDL + 1,9 HbA <sub>1C</sub>	Predictor	Coeficiente	EE del coeficiente	t	p
Constante	163,0	136,5		1,19	0,355
Actividad de protrombina	-0,0525	0,6614		-0,08	0,944
Fibrinógeno	0,17105	0,06685		2,56	0,125
aTPP	-0,1181	0,7272		-0,16	0,886
Plaquetas	-0,0001126	0,0003032		-0,37	0,746
Colesterol	-0,4554	0,3582		-1,27	0,331
cHDL	-0,201	1,147		-0,18	0,877
HbA <sub>1C</sub>	1,90	20,37		0,09	0,934
S = 18,9561; R <sup>2</sup> = 80,3%; R <sup>2</sup> ajustada = 11,4%					
Análisis de la variancia					
Fuente	DF	SS	MS	F	p
Regresión	7	2.933,3	419,0	1,17	0,536
Error residual	2	718,7	359,3		
Total	9	3.652			

aTPP: tiempo de tromboplastina parcial activado; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; DF: grados de libertad; EE: error estándar; FvW: factor de von Willebrand; HbA<sub>1C</sub>: hemoglobina glucosilada.

La relación entre la concentraciones plasmáticas de FvW y las de fibrinógeno ha sido descrita por varios autores en situaciones de alteración endotelial<sup>13,14</sup>, y se puede considerar, además, la elevación en las concentraciones de fibrinógeno como un reactante de fase aguda, según otros investigadores<sup>15-17</sup>. Este resultado explicaría por qué en nuestra serie sólo se obtuvo significación estadística en el estudio de correlación entre las concentraciones de fibrinógeno y las de FvW en el grupo I, ya que en éste las concentraciones de fibrinógeno se podrían interpretar como un reactante de fase aguda, circunstancia que no se dio en los otros 2 grupos del trabajo.

En los resultados del estudio multivariable, observamos nuevamente que solamente las concentraciones de fibrinógeno en el grupo I guardaron relación con las del FvW. Ni el tratamiento médico de los pacientes ni los resultados de la hemostasia estándar del grupo II obtuvieron significación estadística en el estudio multivariable. Este resultado coincide con el obtenido en el análisis univariable, con lo que se puede plantear la relación entre las dos moléculas. Como ya comentamos previamente, podemos preguntarnos si cabe interpretar el FvW como un reactante de fase aguda; en este sentido varios trabajos apuntan a la posibilidad de que el FvW se pueda considerar como indicador de alteración endotelial, e incluso como factor de riesgo para la aparición de diabetes, y no como reactante de fase aguda en sujetos diabéticos<sup>18-23</sup>, con una significación probablemente diferente de la obtenida para el fibrinógeno<sup>15,16</sup>, lo que daría aún más valor a nuestros resultados, y reafirma la relación entre unos valores elevados de actividad del FvW antígenico y la alteración endotelial subyacente en los pacientes diabéticos con CI.

En resumen, los pacientes diabéticos tienen concentraciones mayores de FvW que las personas sanas, sin

factores conocidos de riesgo cardiovascular, y mayores aún en los diabéticos con CI que entre los diabéticos sin complicaciones vasculares demostradas o clínicamente significativas.

Este resultado indicaría que el FvW podría considerarse tanto un factor de riesgo de desarrollo de lesión endotelial como un marcador de riesgo de complicaciones de lesión endotelial, una vez que ésta se desarrolla para dar expresividad clínica.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). *N Engl J Med.* 1992;326:242-50.
2. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (2). *N Engl J Med.* 1992;326:310-8.
3. Badimon L, Badimon JJ, Turitto VT, Vallabhajosula S, Fuster V. Platelet thrombus formation on collagen type I: a model of deep vessel injury: influence of blood rheology, von Willebrand factor, and blood coagulation. *Circulation.* 1988;78: 1431-42.
4. Virgós B, Nebra AC, Sánchez C, Suárez MA, Cornudella R. Angor inestable y lesión endotelial. *Med Intensiva.* 2003;27: 318.
5. Vischer UM. Von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost.* 2006;4:1186-93.
6. Meyer D, Girma JP. Von Willebrand Factor: Structure and function. *Thromb Haemostas.* 1993;70:99-104.
7. Mazurieri C, Meyer D. Molecular basis of von Willebrand disease. *Clin Haematol.* 1996;9:229-41.
8. Meigs JB, O'Donnell CJ, Tofler GH, Benjamin EJ, Fox CS, Lipska I, et al. Hemostatic markers of endothelial dysfunction and risk of incident type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes.* 2006;55:530-7.
9. Lim HS, Chong AY, Freestone B, Blann AD, Lip GY. The effect of multi-factorial intervention on plasma von Willebrand

- factor, soluble E-selectin and tissue factor in diabetes mellitus: implications for atherosclerotic vascular disease. *Diabet Med.* 2005;23:249-55.
10. Vischer UM, Emeis JJ, Bilo HJ, Stehouwer CD, Thomsen C, Rasmussen O, et al. Plasmatic nitric oxide, but not von Willebrand Factor, is an early marker of endothelial damage, in type 1 diabetes mellitus patients without microvascular complications. *Thromb Haemost.* 1998;80:1002-7.
11. Zareba W, Pancio G, Moss AJ, Kalaria VG, Marder VJ, Weiss HJ, et al. Increased level of von Willebrand factor is significantly and independently associated with diabetes in postinfarction patients. *THROMBO Investigators. Thromb Haemost.* 2001;86:791-9.
12. Chan NN, Fuller JH, Rubens M, Colhoun HM. Von Willebrand factor in type 1 diabetes: its production and coronary artery calcification. *Med Sci Monit.* 2003;9:CR297-303.
13. Kain K, Catto AJ, Young J, Bamford J, Bavington J, Grant PJ. Increased fibrinogen, von Willebrand factor and tissue plasminogen activator levels in insulin resistant South Asian patients with ischaemic stroke. *Atherosclerosis.* 2002;163:371-6.
14. Greaves M, Malia RG, Goodfellow K, Mattock M, Stevens LK, Stephenson JM, et al. Fibrinogen and von Willebrand factor in IDDM: relationships to lipid vascular risk factors, blood pressure, glycaemic control and urinary albumin excretion rate: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia.* 1997;40:698-705.
15. García-Unzueta MT, Berrazueta J, Pesquera C, Obaya S, Fernández MD, Sedano C, et al. Levels of plasma total adrenomedullin are related with two acute phase inflammatory reactants (fibrinogen and sialic acid) but not with markers of endothelial dysfunction in Type 1 diabetes Adrenomedullin and vascular risk factors in Type 1 DM. *J Diabetes Complications.* 2005;19:147-54.
16. Jensen T, Halvorsen S, Godal HC, Sandset PM, Skjónsberg OH. Discrepancy between fibrinogen concentrations determined by clotting rate and clottability assays during the acute-phase reaction. *Thromb Res.* 2000;100:397-403.
17. Irish A. Cardiovascular disease, fibrinogen and the acute phase response: associations with lipids and blood pressure in patients with chronic renal disease. *Atherosclerosis.* 1998;137:133-9.
18. Yudkin JS, Panahloo A, Stehouwer C, Emeis JJ, Bulmer K, Mohamed-Ali V, et al. The influence of improved glycaemic control with insulin and sulphonylureas on acute phase and endothelial markers in Type II diabetic subjects. *Diabetologia.* 2000;43:1099-106.
19. Blann AD. Plasma von Willebrand factor, thrombosis, and the endothelium: the first 30 years. *Thromb Haemost.* 2006;95:49-55.
20. Krakoff J, Funahashi T, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Tanaka S, Matsuzawa Y, et al. Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian. *Diabetes Care.* 2003;26:1745-51.
21. Meigs JB, O'Donnell CJ, Tofler GH, Benjamin EJ, Fox CS, Lipska I, et al. Hemostatic markers of endothelial dysfunction and risk of incident type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes.* 2006;55:530-7.
22. Targher G, Bertolini L, Zoppini G, Zenari L, Falezza G. Increased plasma markers of inflammation and endothelial dysfunction and their association with microvascular complications in Type 1 diabetic patients without clinically manifest macroangiopathy. *Diabet Med.* 2005;22:999-1004.
23. Kain K, Catto AJ, Young J, Bamford J, Bavington J, Grant PJ. Increased fibrinogen, von Willebrand factor and tissue plasminogen activator levels in insulin resistant South Asian patients with ischaemic stroke. *Atherosclerosis.* 2002;163:371-6.