

Diabete e coagulazione

Roberto Testa¹, Sophie Testa²

¹INRCA IRCCS, Università Politecnica delle Marche

²Direttore Centro Emostasi e Trombosi, Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia AO, Istituti Ospitalieri, Cremona

ABSTRACT

Diabetes and coagulation. Diabetes mellitus is a metabolic disorder principally characterized by hyperglycemia and complications related to micro and macroangiopathy. Type 2 diabetes is the principal risk factor for coronary artery disease and patients with diabetes are two to four times more likely to develop cardiovascular disease. The metabolic disorder in diabetic patients causes endothelial damage, platelet activation and imbalance of the coagulation cascade, with a relative prothrombotic state due to increased levels of von Willebrand factor, fibrinogen, D-dimer, thrombin and factor VII. Impaired fibrinolysis is strongly involved in the genesis of vascular complications in type 2 diabetes. The fibrinolytic system regulates the conversion of plasminogen to plasmin, allowing the degradation of fibrin deposits in the blood vessels. Type 2 diabetes mellitus coagulation abnormalities and the role of plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1), its deletion/insertion polymorphism (4G/5G), thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) and lipoprotein(a) (Lp(a)) and the effects of activated innate immunity on fibrinolysis are discussed in this review.

INTRODUZIONE

Il diabete mellito è un disordine metabolico, principalmente caratterizzato dall'elevato livello glicemico e da complicanze secondarie alla microangiopatia e alla macroangiopatia responsabili dell'elevata morbilità e mortalità della malattia.

Il Diabete Mellito tipo 2, caratterizzato dal deficit relativo di insulina e/o dalla resistenza all'insulina, rappresenta la forma più frequente di diabete (circa il 90%) ed è associato a fattori di rischio quali l'invecchiamento della popolazione generale, l'obesità e la sedentarietà¹⁻³.

Ben nota è l'associazione tra diabete e malattie cardiovascolari e cerebrovascolari: angina pectoris, IMA, stroke, arteriopatia periferica, trombosi arteriose e trombosi venose rappresentano le forme più frequenti delle alterazioni circolatorie, associate prevalentemente a processi di natura aterosclerotica e ad alterazioni del flusso ematico. Si calcola che circa il 5,2% delle morti per causa cardiovascolare sia associata al diabete^{3,4}.

Questa breve premessa di tipo epidemiologico è fondamentale per introdurre il concetto di diabete quale fattore di rischio per la malattia trombotica arteriosa e venosa. I fattori di rischio consolidati e noti quali l'ipertensione arteriosa, la dislipidemia, l'obesità, la sedentarietà sono ormai gli elementi di valutazione per la definizione di rischio cardiovascolare ed oggetto di programmi di intervento terapeutici. Dalla loro correzione, infatti, ne deriva una riduzione del rischio di eventi.

Tra questi fattori non si evidenzia la valutazione dei parametri coagulativi, quando invece è ben nota l'associazione tra l'alterazione degli stessi le complicanze cardiovascolari e la malattia diabetica.

Una delle prime e più note osservazioni risale allo

studio Framingham che ha evidenziato l'associazione tra elevati livelli di fibrinogeno e malattia cardiovascolare con un rischio calcolato per il diabete mellito^{5,6}.

DIABETE E COAGULAZIONE

Le implicazioni fisiopatologiche della malattia cardiovascolari nel diabete sono molteplici e inter-correlate. Tra queste ricordiamo le alterazioni del sistema renina/angiotensina e della funzione endoteliale; l'attivazione dei processi infiammatori e l'attivazione piastrinica; le modificazioni della bilancia emostatica.

In questo capitolo cercheremo di affrontare alcuni aspetti relativi allo squilibrio del sistema emostatico nella malattia diabetica, in particolare: le alterazioni dell'endotelio, della funzione piastrinica, della fase coagulativa e del sistema fibrinolitico, valutandoli come meccanismi associati all'aumentato rischio cardiovascolare del paziente diabetico.

Centrale nella fisiopatologia della macroangiopatia diabetica è la formazione della placca aterosclerotica alla quale concorrono numerosi fattori, così schematizzabili:

- 1) danno/alterazione endoteliale
- 2) alterazione della permeabilità dell'endotelio
- 3) passaggio di sostanze, tra le quali il colesterolo, nella matrice del vaso
- 4) attivazione piastrinica
- 5) aggregazione piastrinica
- 6) rigidità di parete, secondaria alla mancata produzione e rilascio di sostanze vasoattive
- 7) attivazione della fase coagulativa
- 8) alterazioni della fase fibrinolitica

DIABETE E ENDOTELIO

L'endotelio, fino a pochi anni fa visto semplicemente come contenitore semipermeabile del sangue, e' oggi considerato un *organo* con una funzione dinamica di regolazione tra meccanismi trombotogenici, anticoagulanti e fibrinolitici.

Le alterazioni strutturali e funzionali dell'endotelio si associano con lo sviluppo della placca aterosclerotica e con trombosi dei vasi. Il danno dell'endotelio si associa a rapida adesione e aggregazione delle piastrine e ad attivazione della cascata coagulatoria (tab.1)

Prostaciclina e NO, normalmente prodotti dall'endotelio integro, inibiscono l'attivazione piastrinica e favoriscono il rilasciamento delle cellule muscolari favorendo il flusso ematico. I pazienti affetti da diabete mellito presentano ridotto rilascio di prostaciclina e NO, mentre la terapia insulinica migliora la funzione endoteliale⁸.

Proteine pro-coagulanti quali il fattore von Willebrand (vWF) sono normalmente sintetizzate dall'endotelio: elevati livelli plasmatici di vWF risultano in pazienti affetti da diabete mellito, espressione di disfunzione/danno endoteliale⁹.

Le alterazioni della parete vasale, fattore di primaria importanza nella patogenesi dei trombi arteriosi, di cui l'aterosclerosi e' la causa piu' frequente di danno, favoriscono l'ispessimento della parete vasale per la proliferazione delle fibrocellule muscolari. L'endotelio rappresenta un'entita' anatomica e funzionale atta a favorire il flusso ematico ed esprime fattori che attivano o inibiscono la funzione piastrinica e la coagulazione del sangue in relazione ai diversi stimoli (tab. 2).

Il danno della parete vasale (ad esempio la formazione della placca aterosclerotica) comporta la cascata di eventi che determina progressivamente l'ispessimento della parete con conseguente modificazione del flusso ematico che da lineare diventa turbolento. Ciò favorisce la formazione del trombo piastrinico e la successiva embolizzazione.

DIABETE E PIASTRINE

L'attivazione piastrinica rappresenta una fase centrale nella formazione del trombo arterioso.

In condizioni fisiologiche la parete del vaso a contatto con il sangue e' integra e i meccanismi pro e anticoagulanti risultano in equilibrio costante. Quando, invece, si determina una lesione o disfunzione dell'endotelio la parete diventa più permeabile a sostanze contenute nel sangue, permettendo il passaggio di numerose molecole, tra cui il colesterolo, che si deposita all'interno del vaso favorendo la formazione della placca aterosclerotica.

Le caratteristiche funzionali delle piastrine dei pazienti diabetici differiscono significativamente da quelle di soggetti normali e tali modificazioni sono responsabili dell'aumentata aggregabilità e adesività delle stesse¹⁰⁻¹³, responsabili delle complicanze a carico del microcircolo e della macrocircolazione (tab. 3).

Inoltre studi di intervento di prevenzione primaria

della malattia cardiovascolare hanno dimostrato la minore efficacia di basse dosi di aspirina in pazienti diabetici rispetto ai non diabetici. La ridotta risposta delle piastrine alle basse dosi di aspirina sembra associato ad elevati livelli di emoglobina glicosilata HbA1c¹⁴⁻¹⁵.

Lo stress ossidativo indotto dall'iperglicemia sembra responsabile dell'aumentata perossidazione dell'acido arachidonico a formare isoprostani biologicamente attivi, che rappresentano il legame tra ridotto controllo glicemico e la persistente attivazione piastrinica.

L'attivazione della glicoproteina IIb/IIIa e l'espressione di p-selectina delle piastrine aumentano sia nei pazienti diabetici che nei volontari sani dopo aggiunta di glucosio, suggerendo che l'aumentata osmolarità associata all'iperglicemia possa essere responsabile dell'aumentata aggregabilità delle piastrine.¹²

Il meccanismo di attivazione delle piastrine nei pazienti diabetici non è certo, mentre è provato l'aumentato metabolismo dell'acido arachidonico delle piastrine con conseguente aumentata produzione di tromboxano

Tabella 1

Alterazioni endoteliali associate a diabete mellito

Alterata sintesi di NO
Elevati livelli plasmatici di vWF
Ridotta elasticità dei vasi
Ridotto rilascio di prostaciclina

Tabella 2

Le principali funzioni dell'endotelio

Fattore emostatico	Funzione
ADPasi	Inibisce l'aggregazione piastrinica
Attivatore tissutale del Plasminogeno (t-PA)	Attiva il Plasminogeno
Endotelina	Vasocostrizione
Eparano solfato	Attività eparino-simile
Fattore V	Cofattore Fxa
Fattore di Aggregazione Piastrinica (PAF)	Cofattore Fxa
Fattore tissutale	Cofattore FVIIa
Molecole di adesione cellulare (CAM)	Recettori di proteine adesive
Ossido Nitrico	Inibisce aggregazione piastrinica, vasodilatatore
Prostaciclina	Inibisce aggregazione piastrinica
Proteine adesive (fattore von Willebrand, fibronectina, collagene)	Adesione piastrine, monociti, polimorfocleati
Trombomodulina	Recettore per l'attivazione della proteina C
Tromboxano A2 (TXA2)	Aggregazione piastrinica

Tabella 3*Alterazioni piastriniche nel diabete*

Alterato metabolismo
Modificazioni delle trasmissioni dei segnali intracellulari
Ridotto stato di ossidazione
Aumentato volume piastrinico
Aumentata aggregabilità e adesività
Ridotta sensibilità all'aspirina
Ridotta generazione di ossido nitrico

A2^{16,17}. L'aumentata liberazione di tromboxano determina una potente azione vasocostrittiva, bloccata dall'azione dell'acido acetil-salicilico che inibisce la biosintesi di tromboxano A2. Le piastrine di pazienti diabetici presentano un volume medio significativamente maggiore e questa alterazione è associata indipendentemente ad aumentato rischio di infarto del miocardio¹⁸. Le membrane piastriniche presentano alterazioni della fluidità secondarie a composizione lipidica e a glicosilazione delle proteine di membrana^{19,20}. Alterazioni dei livelli di magnesio intracellulare si associano ad aumentata aggregabilità e adesività delle piastrine dei pazienti diabetici.

DIABETE E COAGULAZIONE PLASMATICA

I pazienti affetti da diabete mellito presentano significative alterazioni dei livelli delle proteine plasmatiche della coagulazione, tanto che la malattia può essere considerata *di per se'* una condizione di ipercoagulabilità²¹⁻²⁶.

È stato, infatti, dimostrato che i livelli di fattore VII, fattore FVIII, vWF, Fibrinogeno risultano significativamente più elevati nei pazienti diabetici rispetto alla popolazione generale, ma il ruolo dell'iperglicemia/ipersulinemia del diabete mellito tipo 2 nella patogenesi di questi cambiamenti non è noto. Esistono evidenze che suggeriscono un effetto modulatore dell'iperglicemia/ipersulinemia sui livelli plasmatici delle proteine coagulatorie. Ad esempio è stato dimostrato che il controllo glicemico correla con i livelli di fibrinogeno⁵ e con i livelli di Fibrinopeptide A plasmatico e urinario^{27,28}. Inoltre si è evidenziato che l'iperglicemia indotta rapidamente determina aumento del FVII coagulante (FVIIc) e del frammento protrombinico F1+2²⁹.

La coagulazione inizia quando il fattore tissutale (TF) è esposto al sangue in seguito a danno o infiammazione dell'endotelio. La via di attivazione del TF rappresenta il meccanismo primario di inizio della coagulazione plasmatica. Legandosi al FVII lo converte a FVII attivato (FVIIa) che a sua volta attiva il FIX e il FX a FIXa e FXa. Il FXa genera quindi piccole quantità di trombina, convertendo la protrombina (fattore II) in trombina (fattore IIa). La formazione di fibrina stabile rappresenta il termine della via di attivazione della coagulazione.

L'attivazione delle vie coagulatorie sembra dipendere non solo dalla lesione/disfunzione dell'endotelio, che

come precedentemente descritto attiva le piastrine e la coagulazione, ma anche direttamente dalla iperglicemia con diretta attivazione del FVIIa via TF³⁰⁻³². L'attivazione della via del TF potrebbe dipendere dalla stimolazione dei monociti e delle cellule endoteliali ad esprimere TF. È dimostrato, infatti, che cellule endoteliali umane in coltura iperglicemica aumentano l'espressione del gene del TF³³. Inoltre la perturbazione dell'endotelio e l'esposizione di TF potrebbe essere secondaria allo stress ossidativo indotto dall'iperglicemia³⁴.

Proprio recentemente è stato ipotizzato il legame tra TF prodotto dalle cellule alfa e beta delle isole pancreatiche in risposta all'iperglicemia/ipersulinemia e rischio di eventi cardiovascolari nei pazienti affetti da diabete mellito tipo II o con ridotta tolleranza al glucosio³⁵.

I meccanismi emostatici sono fenomeni complessi e bilanciati. Ciò significa che la "semplice cascata coagulatoria" è in realtà una bilancia in equilibrio tra attivazione ed inibizione. Ed infatti l'azione procoagulante è controllata in vivo da sistemi che agiscono attraverso l'inibizione delle proteasi seriniche e dei cofattori non enzimatici.

Un'eccessiva attivazione dei fattori della coagulazione o il difetto dei sistemi di inibizione, porta all'eccessiva formazione di fibrina cioè determina uno stato di ipercoagulabilità

Elevati livelli di FVIIa, FVIIc e FVIIIc in presenza di un potente stimolo, quale ad esempio la placca aterosclerotica, possono contribuire ad aumentare l'incidenza di eventi cardio-cerebro vascolari nei pazienti diabetici.

Sono state descritte alterazioni dei sistemi di controllo anticoagulante – il sistema dell'antitrombina e della Proteina C- che attivati cronicamente possono a lungo termine presentare un difetto da consumo³⁶⁻³⁷. Come è noto il difetto dei meccanismi inibitori della coagulazione plasmatica si associano, per lo più, a complicanze trombotiche dei distretti venosi più che arteriosi.

DIABETE E FIBRINOLISI

Le anomalie della fibrinolisi presenti nella patologia diabetica giocano un ruolo molto importante nella patogenesi delle complicanze vascolari. La fibrinolisi comprende un elaborato sistema enzimatico a cascata, caratterizzato da proteine attivatrici ed inibitrici che modulano la trasformazione del plasminogeno in plasmina, permettendo la degradazione dei depositi di fibrina nei vasi sanguigni. È molto importante l'integrità dei meccanismi che regolano questo sistema, perché la ipofibrinolisi, caratteristicamente associata alla malattia diabetica, è una delle cause di sviluppo delle complicanze vascolari. Nel diabete mellito di tipo 2 il numero di anomalie rilevate a livello della fibrinolisi è così elevato da scoraggiarne lo studio a neofiti. Nonostante ciò, alcuni caposaldi possono permettere di orientarsi attraverso tale giungla di osservazioni. Innanzitutto è ben stabilito da tempo che la profonda riduzione di attività fibrinolitica presente nel T2DM è strettamente correlata con gli alti livelli dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno di tipo 1 (PAI-1)^{38, 39}. Alti livelli di questa molecola sono inoltre

correlati con il rischio di comparsa di diabete e con la comparsa delle complicanze micro-macrovascolari^{38,40}. Il PAI-1, enzima appartenente alla famiglia delle serin-proteasi, è considerato il più importante inibitore fisiologico della fibrinolisi, in quanto reagisce con l'attivatore tissutale del plasminogeno (tPA) inattivandolo rapidamente. Responsabile del legame con il t-PA sarebbe la formazione di ponti elettrostatici tra le due molecole, in ragione dell'esistenza di una sequenza critica di 7 residui aminoacidici. I livelli plasmatici di questa molecola nella malattia diabetica sono risultati correlati a body mass index, grasso viscerale, insulinemia, trigliceridemia, *small dense* LDL, HDL, infiammazione e stress ossidativo^{41,42}. L'insulino resistenza sembra quindi essere alla base delle modificazioni dei livelli plasmatici di PAI-1⁴³. Condizioni insulino-sensibilizzanti quali la perdita di peso e l'attività fisica o l'uso di farmaci quali la metformina e i tiazolidinedionici riducono infatti i livelli di PAI-1^{38,44-46}. Tra i vari determinanti del PAI-1 vanno annoverati anche quelli genetici. Diversi siti polimorfici sono stati identificati nel locus genico del PAI-1 quali i polimorfismi di transizione in posizione -844 A/G ed in posizione -1334 G/A, ma il più importante e più studiato è il polimorfismo 4G/5G della regione promoter in posizione -675. Le due varianti alleliche, che presentano una sequenza di 4 o 5 guanine, sono state messe in relazione al *rate* di trascrizione del gene del PAI-1, associandosi in maniera differente ai livelli plasmatici della molecola. Più in dettaglio la variante 4G è correlata ad una maggiore espressione del gene del PAI-1 in quanto non presenta, diversamente dal 5G, un sito addizionale di legame per un inibitore⁴⁷. Studi più recenti hanno dimostrato che questo polimorfismo non sembra capace di influenzare fortemente i livelli "basali" del PAI-1, ma che è in grado di produrre risposte diverse a vari tipi di stimoli ambientali quali l'attività fisica, le citochine proinfiammatorie, i trigliceridi, l'età o farmaci quali gli ormoni sessuali⁴¹.

Recentemente è stato individuato un nuovo potente inibitore della fibrinolisi, denominato inibitore della fibrinolisi attivabile dalla trombina (thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor-TAFI), sintetizzato prevalentemente nel fegato ma anche nel tessuto adiposo e nelle cellule endoteliali, la cui attività ed i cui livelli plasmatici sono risultati significativamente aumentati nei pazienti diabetici⁴⁸. È una metallo-carbossipeptidasi zinco dipendente, circola nel sangue sotto forma di proenzima e viene attivata attraverso il taglio a livello dell'arginina 92 dando un enzima attivo (TAFIa), soprattutto in presenza del complesso trombina/trombomodulina. Il TAFIa inibisce la fibrinolisi attraverso la rimozione dei residui di lisina C-terminali (effetto "falciatrice"). Tale taglio causa una diminuzione del legame del plasminogeno e del tPA alla superficie della fibrina parzialmente degradata⁴⁹. L'aumento dei livelli di TAFI nel diabete non sembrerebbe correlato all'insulino resistenza, come inizialmente riportato⁵⁰, ma più verosimilmente ad altri fattori quali i livelli di colesterolo LDL⁵¹. Il TAFI gioca quindi un ruolo importante nella delicata bilancia emostatica tra coagulazione e fibrinolisi e le sue caratteristiche, nella nostra

opinione, ne configurano un ruolo più strettamente legato alla fibrinolisi dello stesso PAI-1, cui funzioni e regolazioni sono risultati correlati anche a molti fattori estranei alla coagulazione. Questa molecola è quindi posta ad un livello chiave della cascata emostatica. I dati relativi al rischio cardiovascolare ad essa correlati sono a tutt'oggi oggetto di studio⁵². Indicazioni interessanti stanno anche emergendo dagli studi relativi ai polimorfismi del gene del TAFI tra cui l'Ala 147/Thr e il C+ 1542 G⁵².

Un'altra molecola interessante che è stata studiata nel diabete è la lipoproteina(a) o Lp(a). I componenti della Lp(a) hanno similarità sia con le LDL che con il plasminogeno suggerendo che questa lipoproteina possa rappresentare un ponte tra i campi dell'aterosclerosi e della trombosi⁵³. Essa inibisce l'attivazione del plasminogeno in quanto ha una struttura simile ad esso senza la capacità di convertirsi in un enzima plasmino-simile. Molti autori hanno trovato elevati livelli di Lp(a) in soggetti diabetici. Tale aumento è stato interpretato come una delle cause di ipofibrinolisi diabetica e di insorgenza delle complicanze⁵⁴. Vari studi hanno evidenziato la presenza di una relazione inversa tra Lp(a) e PAI-1, interpretata come un meccanismo compensatorio del sistema fibrinolitico per limitare il rischio di ipofibrinolisi⁵⁵.

Vorremmo concludere questa breve trattazione affrontando un argomento emergente di ricerca che coinvolge molti aspetti della malattia diabetica: l'infiammazione. Numerose evidenze cliniche, epidemiologiche e sperimentali supportano l'ipotesi che l'*activated innate immunity* è alla base dei meccanismi che sottendono la malattia diabetica, dalla patogenesi all'evento acuto⁵⁶. I fenomeni infiammatori determinano un incremento delle concentrazioni plasmatiche di citochine come l'interleuchina 6 e di proteine della fase acuta quali la proteina C reattiva, l'alfa-glicoproteina acida e il fibrinogeno. È stato dimostrato che l'infiammazione modifica il bilancio emostatico in senso trombotico attraverso vari meccanismi⁵⁷, tra cui l'inibizione della fibrinolisi dovuta principalmente all'aumento del PAI-1⁵⁸. Lo studio delle interrelazioni tra la componente infiammatoria e quella fibrinolitica ha quindi aperto nuove prospettive diagnostiche e terapeutiche nel management di malattie come il diabete con una complessa componente vascolare.

Si ringrazia la Dott.ssa Anna Rita, Bonfigli per l'aiuto datomi nella stesura di questa breve review.

BIBLIOGRAFIA

1. Watkins K, Connell CM. Measurement of health-related QOL in diabetes mellitus. *Pharmacoeconomics* 2004;22:1109-26.
2. Wannamethee SG, Shaper AG. Weight change and duration of overweight and obesity in the incidence of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:1266-72.
3. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998;21:1414-31.
4. Pan WH, Cedres LB, Liu K, Schoenberger JA, Shekelle RB, Stamler R, Smith D, Collette P, Stamler J: relationship of clinical diabetes and asymptomatic hyperglycemia to risk of coronary heart disease mortality in men and

- women. *Am J Epidemiol* 123:504-516, 1986.
5. Uusitupa MI, Niskanen LK, Siitonen O, Voutilainen E, Pyorala K: 5-years incidence of atherosclerotic vascular disease in relation to general risk factors, insulin level, and abnormalities in lipoprotein composition in non-insulin dependent diabetic and nondiabetic subjects. *Circulation* 82:27-36,1990.
 6. Kannel WB, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, Gagnon DR: Diabetes, fibrinogen and risk of cardiovascular disease the Framingham experience. *Am Heart J* 129:672-676,1990.
 7. Kannel WB, McGree DL. Diabetes and cardiovascular disease: the Framingham study. *JAMA* 1979;241:2035-8.
 8. Du XL, Edelstein D, Dimmeler S. Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site. *J Clin Invest* 2001;108:1341-8.
 9. Zareba W, Pancio G, Moss AJ. Increased level of von Willebrand factor is significantly and independently associated with diabetes in postinfarction patients. *Thromb Haemost* 2001;86:791-9.
 10. Vercicel E, Januel C, Carreras M. Diabetic patients without vascular complications display enhanced basal platelet activation and decreased antioxidant status. *Diabetes* 2004;53:1046-51.
 11. Ferroni P, Basili S, Falco A, Davi G. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. *J Thromb Haemost* 2004;2:1282-91.
 12. Keating FK, Sobel BE, Schneider DJ. Effects of increased concentrations of glucose on platelet reactivity in healthy subjects and in patients with and without diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2003;92:1362-5.
 13. Queen LR, Ji Y, Goubareva I, Ferro A. Nitric oxide generation mediated by beta-adrenoceptors is impaired in platelets from patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2003;46:1474-82.
 14. Sacco M, Pellegrini F, Roncaglioni MC. Primary prevention of cardiovascular events with low-dose aspirin and vitamin E in type 2 diabetic patients: results of the Primary Prevention Projects (PPP) trial. *Diabetes Care* 2003;26:3264-72.
 15. Watala C, Golanski J, Pluta J. Reduced sensitivity of platelets from type 2 diabetic patients to acetylsalicylic acid (aspirin)-its relation to metabolic control. *Thromb Res* 2004;113:101-13.
 16. Halushka PV, Rogers RC, Loadholt CB, Colwell JA. Increased platelet thromboxane synthesis in diabetes mellitus. *J Lab Clin Med* 1981;97:87-96.
 17. Mayfield RK, Halushka PV, Wohltmann HJ. Platelet function during continuous insulin infusion treatment in insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes* 1985;34:1127-33.
 18. Hekimsoy Z, Payzin B, Ornek T, Kandogan G. Mean platelet volume in Type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications* 2004;18:173-6.
 19. Watala C, Boncer M, Golanski J. Platelet membrane lipid fluidity and intraplatelet calcium mobilization in type 2 diabetes. *Eur J Haematol* 1998;61:319-26.
 20. Jokl R, Colwell JA. Arterial thrombosis and atherosclerosis in diabetes. *Diabetes Metab Rev* 1997;5:1-15.
 21. Sobel BE, Schneider DJ. Platelet function, coagulopathy and impaired fibrinolysis in diabetes. *Cardiol Clin* 2004;22:511-26.
 22. Fuller JH, Keen H, Jarrett RJ et al. Haemostatic variables associated with diabetes and its complications. *Br Med J* 1979;2:964-6.
 23. Christe M, Fritschi J, Lammler B et al. Fifteen coagulation and fibrinolysis parameters in diabetes mellitus and in patients with vasculopathy. *Thromb Haemost* 1984;52:138-43.
 24. Erem c, Haccihasanoglu A, Celik S. et al. Coagulation and fibrinolysis parameters in type 2 diabetic patients with and without diabetic vascular complications. *Med Princ Pract* 2005;14:22-30.
 25. Gabazza EC, Takeya H, Deguchi H. Protein C activation in NIDDM patients. *Diabetologica* 1996;39:1455-61.
 26. Gough SC, Grant PJ. The fibrinolytic system in diabetes mellitus. *Diabet Med* 1991;8:898-905.
 27. Jones RL. Fibrinopeptide A in diabetes mellitus. *Diabetes*;1985;34: 836-43.
 28. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Dello Russo P, Marchi E, Torella R: Hyperglycemia may determine fibrinopeptide A plasma level increases in humans. *Metabolism* 1989;38:1162-3.
 29. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Dello Russo P, Torella R. Blood glucose may condition FVII levels in diabetic and normal subjects. *Diabetologica* 1988;31:889-91.
 30. Rapaport SI, Rao LVM. The tissue factor pathway: how it has become a "prima ballerina". *Thromb Haemost* 1995;74:7-17.
 31. Nemerson Y. Tissue factor pathway of blood coagulation. *Sem Hematol* 1992;2:170-6.
 32. Steffel J, Luscher TF, Tanner FC. Tissue factor in cardiovascular diseases: molecular mechanism and clinical implications. *Circulation* 2006;113(5):722-31.
 33. Boeri D, Almus FE, Maiello M, Cagliero E, Rao LVM, Lorenzi M. Modification of tissue-factor mRNA and protein response to thrombin and interleukin1 by high glucose in cultured human endothelial cells. *Diabetes* 1989;38:212-18.
 34. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991;40:5-12.
 35. Nilsson B, Berne C, Korsgren O. The recent finding that tissue factor is produced by the pancreatic islets constitutes a possible link between insulin resistance and cardiovascular disease. *Am J Ther* 2005;12:551-4.
 36. Gabazza EC, Takeya H, Deguchi H, Sumida Y, Suzuki K. Protein C activation in NIDDM patients *Diabetologia* 1996; 39: 1455-61
 37. Ceriello A, Quatraro A, Dello Russo P, Marchi E, Barbanti M, Milani MR, Giugliano D. Protein C in insulin-dependent diabetes: a hyperglycemia-related phenomenon. *Thromb Haemost* 1991;66:267-8.
 38. Gough SC, Grant PJ. The fibrinolytic system in diabetes mellitus. *Diabet Med* 1991;8:898-905.
 39. Juhan-Vague I, Alessi MC, Mavri A, Morange PE. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *J Thromb Haemost* 2003;1:1575-9.
 40. Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Insulin Resistance Atherosclerosis Study*. *Diabetes* 2002;51:1131-7.
 41. Hoekstra T, Geleijnse JM, Schouten EG, Kluit C. Plasminogen activator inhibitor-type 1: its plasma determinants and relation with cardiovascular risk. *Thromb Haemost* 2004;91:861-72.
 42. Ceriello A, Curcio F, dello Russo P, Pegoraro I, Stel G, Amstad P, Cerutti P. The defence against free radicals protects endothelial cells from hyperglycaemia-induced plasminogen activator inhibitor 1 over-production. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1995;6:133-7.
 43. Mavri A, Alessi MC, Juhan-Vague I. Hypofibrinolysis in the insulin resistance syndrome: implication in cardiovascular diseases. *J Intern Med* 2004;255:448-56.
 44. Bonfigli AR, Pieri C, Manfrini S, Testa I, Sirolla C, Ricciotti

- R, Marra M, Compagnucci P, Testa R. Vitamin E intake reduces plasminogen activator inhibitor type 1 in T2DM patients. *Diabetes Nutr Metab* 2001;14(2):71-7.
45. Devaraj S, Chan AV Jr, Jialal I. alpha-Tocopherol supplementation decreases plasminogen activator inhibitor-1 and P-selectin levels in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2002;25:524-9.
 46. Liu HB, Hu YS, Medcalf RL, Simpson RW, Dear AE. Thiazolidinediones inhibit TNFalpha induction of PAI-1 independent of PPARgamma activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;334:30-7.
 47. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;342:1792-801.
 48. Yano Y, Gabazza EC, Hori Y, Kitagawa N, Katsuki A, Araki-Sasaki R, Sumida Y, Adachi Y. Association between plasma thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor levels and activated protein C in normotensive type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2002;25:1245-6.
 49. Bouma BN, Meijers JC. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI, plasma procarboxypeptidase B, procarboxypeptidase R, procarboxypeptidase U). *J Thromb Haemost* 2003;1:1566-74.
 50. Hori Y, Gabazza EC, Yano Y, Katsuki A, Suzuki K, Adachi Y, Sumida Y. Insulin resistance is associated with increased circulating level of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:660-5.
 51. Aso Y, Wakabayashi S, Yamamoto R, Matsutomo R, Takebayashi K, Inukai T. Metabolic syndrome accompanied by hypercholesterolemia is strongly associated with proinflammatory state and impairment of fibrinolysis in patients with type 2 diabetes: synergistic effects of plasminogen activator inhibitor-1 and thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. *Diabetes Care* 2005;28:2211-6.
 52. Morange PE, Tregouet DA, Frere C, Luc G, Arveiler D, Ferrieres J, Amouyel P, Evans A, Ducimetiere P, Cambien F, Tiret L, Juhan-Vague I. The Prime Study Group. TAFI gene haplotypes, TAFI plasma levels and future risk of coronary heart disease: the PRIME Study. *J Thromb Haemost* 2005;3:1503-10.
 53. Koschinsky ML, Marcovina SM. Structure-function relationships in apolipoprotein(a): insights into lipoprotein(a) assembly and pathogenicity. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:167-74.
 54. Velmurugan K, Deepa R, Ravikumar R, Lawrence JB, Anshoo H, Senthilvelmurugan M, Enas EA, Mohan V. Relationship of lipoprotein(a) with intimal medial thickness of the carotid artery in Type 2 diabetic patients in south India. *Diabet Med* 2003;20:455-61.
 55. 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.
 56. Pickup JC. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:813-23.
 57. Esmon CT. Crosstalk between inflammation and thrombosis. *Maturitas* 2004;47:305-14.
 58. Bonfigli AR, Marra M, Sirolla C, Boemi M, Mari D, Sacchi E, Procopio A, Recchioni R, Franceschi C, Giovagnetti S, Testa R. Interleukin-6 is a determinant of PAI-1 levels in diabetic subjects with the 4 G allele at position -675 of the PAI-1 gene. *Thromb Haemost* 2006;95:587-8.