

Von Willebrand factor and tissue plasminogen activator as vascular endothelial markers in diabetes type 2

Czynnik von Willebranda i tkankowy aktywator plazminogenu jako wskaźniki czynności śródbłonna naczyń w cukrzycy typu 2

Maria Kotschy¹, Mirosława Polaszewska-Muszyńska², Wanda Będowska-Gontarz², Zofia Sikorska², Sebastian Moskał¹

¹Department of Pathophysiology, Medical University, Bydgoszcz, Poland; ²Centre for Diabetology and Endocrinology, Bydgoszcz, Poland (¹Katedra i Zakład Patofizjologii AM w Bydgoszczy; ²Bydgoskie Centrum Diabetologii i Endokrynologii)

Abstract

Background. Vascular endothelium damage can occur in diabetes. During this process endothelial cells release substances known as activity markers. The aim of our study was to determine the concentration of von Willebrand factor (vWf) and tissue plasminogen activator (t-PA) as markers of endothelial cell damage in plasma of diabetics type 2.

Material and methods. The group examined consisted of 60 patients (31 men and 29 women) with diabetes type 2. The mean age was 62 ± 7.9 years, the duration of disease 15 ± 9 years and the mean level of HbA_{1c} $8.76 \pm 2.1\%$. Proliferative retinopathy was observed in 40 patients. All the diabetics were treated with human insulin. The control group consisted of 23 healthy persons aged 48 ± 9 years. The concentration of vWf and t-PA was determined by the ELISA method.

Results. In all type 2 diabetics a significantly higher concentration of von Willebrand factor and tissue plasminogen activator was observed compared with the control group. No differences were noted between diabetics with and without retinopathy. Sex, age, the duration of the diabetes, the concentration of HbA_{1c} and smoking had no significant effect on vWf and t-PA concentrations. In diabetics with coexisting hypertension significantly increased levels of t-PA were noticed.

Conclusion. Increases in vWf and t-PA concentrations indicate vascular endothelial cell damage in type 2 diabetics.

Key words: von Willebrand factor, tissue plasminogen activator, diabetes type 2

Streszczenie

Wstęp. W przebiegu cukrzycy dochodzi do uszkodzenia komórek śródbłonna naczyń. Następstwem tego procesu jest uwalnianie do krwi substancji uznawanych za wskaźniki jego czynności. Celem pracy było oznaczenie w osoczu krwi chorych na cukrzycę typu 2 czynnika von Willebranda (vWf) i tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) jako wskaźników czynności komórek śródbłonna naczyń.

Material i metody. Badaniem objęto 60 chorych na cukrzycę typu 2, w tym 31 mężczyzn i 29 kobiet, w średnim wieku $62 \pm 7,9$ lat, z około 15-letnim ± 9 lat czasem trwania choroby i średnim stężeniem HbA_{1c} $8,76 \pm 2,1\%$. U 40 chorych stwierdzono retinopatię proliferacyjną. Wszystkich chorych leczono ludzką insuliną. Grupę kontrolną stanowiło 23 zdrowych ochotników w wieku 48 ± 9 lat. W osoczu krwi cytrynianowej oznaczono metodą immunoenzymatyczną (ELISA) stężenie czynnika von Willebranda i tkankowego aktywatora plazminogenu.

Wyniki. W osoczu chorych na cukrzycę typu 2 stwierdzono istotnie wyższe stężenia vWf i t-PA w porównaniu z grupą kontrolną. Nie znaleziono różnic między chorymi na cukrzycę z towarzyszącą retinopatią cukrzy-

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Prof. dr hab. med. Maria Kotschy, Katedra i Zakład Patofizjologii AM, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85–094 Bydgoszcz, Poland
tel: +48 (0 52) 585 35 91, fax: +48 (0 52) 585 35 95

cową a chorymi bez retinopatii cukrzycowej. Płeć i wiek chorych, czas trwania cukrzycy, stężenie HbA_{1c} oraz palenie tytoniu nie wpływały istotnie na stężenia vWf i t-PA. W osoczu chorych na cukrzycę typu 2 z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym obserwowano istotnie wyższe stężenie t-PA.

Wniosek. Podwyższone stężenia vWf i t-PA w osoczu krwi chorych na cukrzycę typu 2 wskazują na uszkodzenie komórek śródbłonna naczyń.

Słowa kluczowe: czynnik von Willebranda, tkankowy aktywator plazminogenu, cukrzyca typu 2

Introduction

Vascular complications are the main cause of disability and higher mortality in the diabetic population. According to the literature, the principal reason for diabetic micro- and macroangiopathy is chronic hyperglycaemia [1, 2]. High glucose concentration is toxic, especially for those cells which take it up and metabolise it independently from insulin. This group includes, for example, the endothelial cells, granulocytes and blood platelets. Glucose penetration of these cells depends solely on its concentration inside and outside the cell membrane [3].

Endothelin plays an important role in the pathogenesis of diabetic vascular complications [2]. The vascular wall is not only a barrier separating the blood stream from the vascular wall, but also, beginning with interactions on the molecular level (especially in the microcirculation), regulates haemostasis, the proliferation of cells, the permeability of the vascular wall and, through several mediators, takes part in inflammatory reactions. Brownlee et al. [4] observed that chronic hyperglycaemia causes an acceleration of non-enzymatic protein glycation and creates irreversible forms of advanced glycation end products (AGE). AGE are toxic for endothelial cells. Bonding with specific cell surface receptors activates them [5, 6], reduces endothelial permeability, causes intensive expression of adhesive molecules and the synthesis of the cytokins interleukins 1 and 6 (IL-1, IL-6) and the tumor necrosis factor (TNF) [7]. The damage to the vascular endothelium causes the release into the plasma of substances known as endothelial cell markers, for example: vWf, TM (thrombomodulin), t-PA and PAI-1 (plasminogen activated inhibitor type 1) [5, 8, 9]. VWF is responsible for the adhesion of blood platelets to the vascular wall [9] and plays a protective role for factor VIII, forming an inactive complex (vWf/VIII). T-PA is the most important physiological tissue plasminogen activator synthesised in the vascular endothelium. It reaches the height of its activity only in the three-component complex of t-PA-plasminogen-fibrin. The t-PA present in plasma is stoichiometrically bound with PAI-1 in inactive complexes (t-PA/PAI-1). In states in which

Wstęp

Powikłania naczyniowe są główną przyczyną inwalidztwa i większej śmiertelności w populacji osób chorych na cukrzycę. Zgodnie z piśmiennictwem uważa się, że przyczyną mikro- i makroangiopatii cukrzycowej jest przewlekła hiperglikemia [1, 2]. Stwierdzono, że najbardziej wrażliwe na toksyczne działanie wysokich stężeń glukozy są te komórki, które pobierają i metabolizują ją niezależnie od insuliny. Są to m.in. komórki śródbłonna, granulocyty i płytki krwi. Przenikanie glukozy do wnętrza tych komórek zależy jedynie od jej gradientu stężeń pomiędzy zewnętrzną a wewnętrzną stroną błony komórkowej [3].

Śródbłonek naczyń, który odgrywa istotną rolę w patogenezie zmian naczyniowych w przebiegu cukrzycy, jest nie tylko barierą oddzielającą strumień krwi od ściany naczyniowej, ale przede wszystkim poprzez wiele interakcji na poziomie molekularnym reguluje hemostazę i prawidłowy przepływ krwi (szczególnie w mikrokrążeniu), proliferację komórek ściany naczynia, wpływa też na jej przepuszczalność oraz przez wiele mediatorów na odpowiedź zapalną [2]. Badania Brownlee i wsp. [4] wykazały, że w warunkach przewlekłej hiperglikemii dochodzi do nasilenia nieenzymatycznej glikacji białek z tworzeniem form nieodwracalnych, określanych jako końcowe produkty glikacji (AGE, *advanced glycosylation end products*). Działają one cytotoksycznie na komórki śródbłonna, a łącząc się ze specyficznymi receptorami na powierzchni komórki prowadzą do ich aktywacji [5, 6]. Ponadto zwiększają przepuszczalność śródbłonna i nasilają ekspresję adhezyn oraz syntezę cytokin: interleukiny 1 (IL-1), interleukiny 6 (IL-6), czynnika martwicy guza (TNF, *tumor necrosis factor*) [7]. Uszkodzenie śródbłonna naczyń powoduje uwalnianie do krwi substancji uznawanych za wskaźniki jego czynności, np. czynnika von Willebranda (vWf, *von Willebrand factor*), trombomoduliny (TM, *thrombin membrane*), tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA, *tissue plasminogen activator*) czy inhibitora aktywatorów plazminogenu typu 1 [5, 8, 9]. Czynnik von Willebranda odpowiada za prawidłową adhezję płytek krwi do subendotelium [9] oraz spełnia wobec czynnika VIII rolę ochronną, tworząc z nim nieaktywne

fibrinolytic impulses do not stimulate endothelial cells its activity can not be detected [10].

The aim of our study was to determine the concentration of von Willebrand factor and tissue plasminogen activator in the plasma of diabetics type 2 as markers of endothelial cell damage.

Material and methods

The group examined consisted of 60 patients (31 men and 29 women) with diabetes type 2. The mean age was 62 ± 7.9 years, the duration of the disease 15 ± 9 years and the mean level of HbA_{1c} $8.75 \pm 2.1\%$. Proliferative retinopathy was observed in 40 patients. Retinal changes were qualified as proliferative retinopathy during ophthalmoscopic examinations with dilated pupils. In doubtful situations fluorescence angiography was performed. The eye fundus examinations revealed non-regular, newly formed vessels with different progressions from initial to advanced. 43 patients had coexisting hypertension and 11 smoked cigarettes. All the diabetics were treated with human insulin and 18 persons received acetylsalicylic acid. All the patients examined were treated in the Centre for Diabetology and Endocrinology in Bydgoszcz. 23 healthy volunteers aged between 38 and 62 (mean age 52 ± 8.1 years) formed the control group. The concentration of vWf and t-PA was determined in citrate plasma by the immunoenzymatic method (ELISA). The concentration of vWf was assessed by means of "Daco" antibodies. The concentration of t-PA was determined by means of the Biopool Imulyse-kit. For the statistical evaluation the Stat-Soft programme "Statistic for Windows" and the Shapiro-Wilkinson test were performed. The distribution of the results obtained was normal and therefore the t-Student's test was used. The results were expressed as mean values and standard deviations (SD). $P \leq 0.05$ was considered as significant. The correlation between the parameters examined and selected clinical data was performed according to Pearson. Our research was approved by the Ethics Committee of the Ludwik Rydygier Medical University.

Results

The results pertaining to the estimation of von Willebrand factor (vWf) and tissue plasminogen activator (t-PA) concentration in the citrate plasma of patients with diabetes type 2 are shown in two tables (Table I, II). Each Table contains the number of patients in the group examined (n), the concentration of vWf:Ag, and t-PA:Ag expressed in mean values (x) and standard deviations (SD). Also shown is the degree of significance of the differences between the groups (p).

Table I shows the mean concentration of vWf:Ag and t-PA:Ag in the plasma of the type 2 diabetics in compar-

kompleksy (vWf/VIII). Czynniki t-PA jest najważniejszym fizjologicznym aktywatorem plazminogenu syntetyzowanym tylko przez śródbłonek naczyń. Wskazuje pełną aktywność jedynie w trójskładnikowym kompleksie t-PA-plazminogen-fibryna. Znajdujący się w osoczu t-PA jest stechiometrycznie związany ze swoimi inhibitorami tak, że przy braku bodźców pobudzających śródbłonek naczyń nie wykrywa się jego aktywności [10].

Celem niniejszej pracy było oznaczenie w osoczu krwi chorych na cukrzycę typu 2 czynnika von Willebranda (vWf) i tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) jako wskaźników czynności śródbłonek naczyń.

Materiał i metody

Badaniem objęto 60 chorych na cukrzycę typu 2, w tym 31 kobiet i 29 mężczyzn, w średnim wieku 62 ± 8 lat, ze średnim czasem trwania cukrzycy 15 ± 9 lat i średnim stopniem wyrównania cukrzycy HbA_{1c} $8,75 \pm 2,1\%$. U 40 osób stwierdzono retinopatię proliferacyjną. Zmiany w siatkówce kwalifikowano jako retinopatię proliferacyjną podczas badania oftalmoskopowego przy źrenicy rozszerzonej mydriatykami. W sytuacjach wątpliwych diagnostycznie wykonywano angiografię fluoresceinową. U każdego chorego na dzień oka odnotowano nieprawidłowe nowo powstałe naczynia. Stwierdzono różny stopień rozwoju tych zmian: od początkowych do zaawansowanych. U 43 chorych występowało nadciśnienie tętnicze, a 11 paliło tytoń. Wszyscy pacjenci byli leczeni preparatami ludzkiej insuliny, a 18 chorych przyjmowało kwas acetylosalicylowy. Badani pozostają pod opieką Bydgoskiego Centrum Diabetologii i Endokrynologii. Grupę kontrolną stanowiło 23 zdrowych ochotników, w tym 13 mężczyzn i 10 kobiet, w wieku 38–62 lat (średni wiek $48 \pm 8,0$ lat). W osoczu krwi cytrynianowej oznaczono metodą immunoenzymatyczną (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*) stężenia czynnika von Willebranda przy użyciu przeciwciał firmy Dako oraz tkankowego aktywatora plazminogenu zestawem Imulyse firmy Biopool. Wyniki oznaczeń opracowano statystycznie z zastosowaniem programów: Microsoft Excel oraz Statistica for Windows 5.0 firmy Statsoft i testu Shapiro-Wilkinsona. Rozkład uzyskanych wyników był normalny, dlatego zastosowano do obliczeń test t-Studenta. Wynik w tabelach wyrażono w postaci wartości średniej (x) oraz odchylenia standardowego (SD, *standard deviation*). Za istotny statystycznie współczynnik przyjęto wartość $p \leq 0,05$. Korelacje pomiędzy badanymi parametrami (o rozkładzie normalnym) wyliczono sposobem najmniejszych kwadratów Pearsona. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy AM im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy.

ison with the control group and also its relationship to the sex and age of the patients in the group. The mean concentration of these parameters in diabetes type 2 is significantly increased ($p < 0.000$). However, there is a wide dispersion of vWf:Ag from 98 to 559% in the plasma of diabetics. Only 33 patients had elevated vWf:Ag, from 184 to 557%, but no reason could be discerned for this. We have not observed any correlations between haemostatic parameters and clinical data such as disease duration and the compensation of diabetes and body mass index (BMI) (Table III). Our control group consisted of 23 persons aged 48 ± 8 . The group is younger than patients with diabetes but the concentrations of vWf and t-PA do not depend on age. The dispersion of vWf:Ag values in the control group was smaller, from 64 to 164%. Similar differences were observed in t-PA:Ag concentration in diabetic plasma. The physiological concentration of t-PA:Ag is 3–10 ng/ml. The small differences in vWf:Ag and t-PA:Ag concentration between women and men and also between younger and older patients were not statistically significant.

Table II illustrates the vWf:Ag and t-PA:Ag concentration in the plasma of patients with diabetes type 2 in relation to clinical parameters. The duration and compensation of diabetes, coexisting proliferative retinopathy, and smoking had no significant influence on vWf:Ag and t-PA:Ag concentrations in the plasma of diabetics.

Table III shows the correlation coefficients "r" (according to Pearson) between the plasma vWf:Ag and t-PA:Ag concentrations and selected clinical data of diabetics such as disease duration, HbA_{1c} and BMI. No correlation between these parameters occurs and the only observable relationships are those between t-PA:Ag ver-

Wyniki

Uzyskane wyniki przeprowadzonych badań nad stężeniami vWf:Ag i t-PA:Ag w osoczu cytrynianowym chorych na cukrzycę typu 2 przedstawiono w tabelach I i II. Każda tabela zawiera liczbę badanych (n), średnie stężenia (\bar{x}) i odchylenia standardowe (SD), a także poziom istotności różnic między badanymi grupami (p).

W tabeli I przedstawiono średnie stężenia i odchylenia standardowe vWf:Ag i t-PA:Ag w osoczu chorych na cukrzycę w porównaniu z grupą kontrolną oraz w zależności od płci i wieku chorych. Średnie stężenia vWf:Ag i t-PA:Ag u chorych na cukrzycę typu 2 są statystycznie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,000$). Należy jednak zaznaczyć, że u chorych na cukrzycę obserwowano duży rozrzut wartości stężeń vWf:Ag od 98% do 559% (u tylko jednego chorego) w porównaniu z ogólnie przyjętą normą 60–180%. Z 60 przebadanych chorych tylko u 33 osób stwierdzono podwyższone stężenie vWf:Ag z rozrzutem wartości od 184 do 557%. Grupa kontrolna była mniej liczna (23 osoby) i młodsza (48 ± 8 lat), lecz jak wynika z badań własnych i piśmiennictwa oba badane parametry nie zależą od wieku. Rozrzut wartości stężenia vWf w grupie kontrolnej wynosił od 64 do 164%. Nie obserwowano tak dużych różnic w stężeniach t-PA:Ag w osoczu chorych i grupy kontrolnej. Rozrzut wartości t-PA:Ag w cukrzycy wynosił od 3,12 do 20,56 ng/ml, przy normie laboratoryjnej 3–10 ng/ml. Nie stwierdzono istotnych różnic w osoczowych stężeniach vWf:Ag i t-PA:Ag między chorymi mężczyznami i kobietami oraz młodszymi i starszymi pacjentami poniżej i powyżej 50 roku życia.

W tabeli II przedstawiono stężenia vWf:Ag i t-PA:Ag w osoczu chorych na cukrzycę typu 2 w zależności od

Table I. Concentration of vWf:Ag and t-PA:Ag in diabetes type 2

Tabela I. Stężenie vWf:Ag i t-PA:Ag u chorych na cukrzycę typu 2

	vWf:Ag (%)				t-PA:Ag [ng/ml]			
	n	\bar{x}	SD	p	\bar{x}	SD	p	
Diabetics Chorzy na cukrzycę	60	187.46	98.60	0.0000	7.33	3.16	0.0429	
Control group Grupa kontrolna	23	95.44	24.95		5.86	3.58		
Women Kobiety	31	177.25	92.13	0.2769	6.96	3.17	0.3526	
Men Mężczyźni	29	198.38	105.61		7.72	3.16		
Age \leq 50 years Wiek \leq 50 lat	6	211.64	148.80	0.8631	6.96	2.42	0.7674	
Age $>$ 50 years Wiek $>$ 50 lat	54	185.77	93.07		7.37	3.25		

n (number of patients) — liczba chorych; \bar{x} (mean value) — wartość średnia; SD (standard deviation) — odchylenie standardowe; p (significant level of difference between examined groups) — poziom istotności różnic między badanymi grupami; vWf (von Willebrand factor) — czynnik von Willebranda; t-PA (tissue plasminogen activator) — tkankowy aktywator plazminogenu

Table II. The concentration of vWf:Ag and t-PA:Ag in diabetes type 2 related to selected clinical parameters**Tabela II.** Stężenie vWf:Ag i t-PA:Ag u chorych na cukrzycę typu 2 w zależności od wybranych parametrów klinicznych

	vWf:Ag (%)				t-PA:Ag [ng/ml]			
	n	x	SD	p	x	SD	p	
Duration of disease Czas trwania cukrzycy ≤ 15 lat	36	170.74	72.76	0.3733	7.68	3.33	0.2924	
Duration of disease Czas trwania cukrzycy > 15 lat	24	212.55	125.66					
With retinopathy Retinopatia proliferacyjna	40	185.83	109.43	0.3508	7.46	2.83	0.6413	
Without retinopathy Bez retinopatii	20	190.72	74.80					
Concentration of HbA _{1c} ≤ 8% Stężenie HbA _{1c} ≤ 8%	21	206.21	125.97	0.7137	7.78	3.38	0.7803	
Concentration of HbA _{1c} > 8% Stężenie HbA _{1c} > 8%	39	177.37	80.28					
Arterial hypertension Nadciśnienie tętnicze	43	181.61	84.54	0.9607	7.85	3.33	0.0387	
Without hypertension Bez nadciśnienia tętniczego	17	202.27	129.49					
Smoking Palący tytoń	11	189.88	110.47	0.8710	8.11	3.01	0.3661	
Non smoking Niepalący	49	186.92	96.98					

n (number of patients) — liczba chorych; x (mean value) — wartość średnia; SD (standard deviation) — odchylenie standardowe; p (significant level of differences between examined groups) — poziom istotności różnic między badanymi grupami; vWf (von Willebrand factor) — czynnik von Willebranda; t-PA (tissue plasminogen activator) — tkankowy aktywator plazminogenu

Table III. Correlation coefficients r (p) of analyzed haemostatic parameters and selected clinical data**Tabela III.** Współczynniki korelacji r (p) analizowanych parametrów hemostazy z wybranymi danymi klinicznymi

	vWf:Ag r (p)	t-PA:Ag r (p)
Age Wiek	-0.0143	0.1639
Duration of diabetes mellitus type 2 Czas trwania cukrzycy typu 2	0.0646	-0.0350
HbA _{1c}	-0.0246	0.2215 p < 0.0483
BMI	0.0731	0.3053 p < 0.0059

r (p) (correlation coefficient according to Spearman) — współczynnik korelacji według Spearmana; BMI (body mass index) — wskaźnik masy ciała; vWf (von Willebrand factor) — czynnik von Willebranda; t-PA (tissue plasminogen activator) — tkankowy aktywator plazminogenu

sus HbA_{1c} (r = 0.221, P < 0.0483) and t-PA:Ag versus BMI (r = 0.305, P < 0.0059).

Discussion

In our study significantly higher concentrations of vWf:Ag and t-PA:Ag in the plasma of type 2 diabetics were observed than in the control group. In 1998 Fuji-

wybranych parametrów klinicznych. Czas trwania i stopień wyrównania cukrzycy, jak również współistniejąca proliferacyjna retinopatia, nadciśnienie tętnicze i palenie tytoniu nie wpływały istotnie na stężenie vWf:Ag i t-PA:Ag u chorych na cukrzycę.

W tabeli III zawarto współczynniki korelacji „r” według Pearsona. Korelację przeprowadzono między osobowymi stężeniami vWf:Ag i t-PA:Ag u chorych na cukrzycę a takimi danymi klinicznymi, jak czas trwania choroby, stężenia HbA_{1c} i wskaźnik masy ciała (BMI, body mass index). Nie obserwowano istotnych korelacji między tymi parametrami. Nieznaczna tendencja do współzależności wystąpiła jedynie między t-PA:Ag a stężeniem HbA_{1c} (r = 0,221; p < 0,0483) oraz między t-PA:Ag a wskaźnikiem BMI (r = 0,305; p < 0,0059).

Dyskusja

W przeprowadzonych przez autorów niniejszego artykułu badaniach stwierdzono istotne statystycznie wyższe stężenie vWf i t-PA w osoczu krwi chorych na cukrzycę typu 2 w porównaniu z grupą kontrolną osób zdrowych. W 1998 r. Fujewara i wsp. [11] opisali podwyższone stężenie vWf i TM (trombomoduliny — błonowego receptora dla trombin) u chorych na cukrzycę typu 2 powikłanej retinopatią. Również w przeprowadzonych przez autorów niniejszego artykułu bada-

wara et al. [11] described an increased level of vWf and thrombomodulin (TM, *thrombin membrane receptor*) in diabetes type 2 with retinopathy. In our examination we have also observed an increased level of TM in diabetics retinopathy [12]. Among our study group were 40 diabetics with proliferative retinopathy. The concentrations of vWf and t-PA in this group were compared with 20 patients without retinopathy. No statistically significant differences could be seen. The levels of vWf:Ag and t-PA:Ag were similar in both groups of patients. Our results were not in agreement with some authors, who have observed an increased concentration of vWf:Ag in diabetic retinopathy [10, 13, 14]. The differences can depend on the degree of eye change or on methods of treatment. Our patients received human insulin.

In our examinations we have not observed any significant differences in the vWf and t-PA concentration between women and men and patients and between those aged over or under 50. Other factors which did not influence the vWf:Ag and t-PA:Ag levels in type 2 diabetics were the duration of the disease, as well as the compensation of glycaemia and smoking. Some authors have made similar observations in diabetic retinopathy [13, 14].

In diabetics with coexisting arterial hypertension a significantly higher t-PA:Ag concentration was found. Only a few papers have been written on endothelial cell damage in diabetics with retinopathy but many publications describe the high level of endothelial cell markers, especially: vWf, TM and t-PA, in diabetic nephropathy [15–18]. A correlation between vWf and t-PA with microalbuminuria was observed [19]. In nephropathy the area of endothelial cell damage is certainly greater than in eyes with diabetic changes. Perhaps, therefore, the release of the endothelial cell markers in nephropathy is more expressed. On the basis of our results and the literature it can be considered that vascular endothelial cell damage occurs in diabetes type 2, resulting in a release of the endothelial cell markers such as vWF, TM, t-PA and PAI-1 (plasminogen activator inhibitor type 1), whose level can increase in conjunction with clinically confirmed major vascular change. The determination of these substances can provide information about the degree of endothelial cell damage in diabetes type 2.

Conclusions

1. In all type 2 diabetics significantly higher concentrations of von Willebrand factor and tissue plasminogen activator were observed compared to the control group, indicating vascular endothelial cell damage.

niach stwierdzono podwyższone stężenie TM w retinopatii cukrzycowej [12]. Ponieważ w grupie 60 chorych z niniejszego badania aż 40 osób miało retinopatię proliferacyjną, wyodrębniono tych pacjentów, a stężenia vWf i t-PA w ich osoczu porównano z grupą 20 chorych na cukrzycę typu 2 bez retinopatii. W uzyskanych wynikach nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych. Stężenia vWf i t-PA w obu grupach chorych były podobne. Wyniki pomiarów vWf w cukrzycy typu 2 z retinopatią są zatem niezgodne z obserwacjami innych autorów, którzy odnotowali podwyższone stężenia vWf w cukrzycowej retinopatii [10, 13, 14]. Różnice mogą zależeć od stopnia nasilenia zmian ocznych, a także od sposobu leczenia.

Chorych badanych przez autorów niniejszego badania leczono ludzką insuliną. W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono także statystycznie istotnych różnic stężeń vWf i t-PA u kobiet i mężczyzn, podobnie jak u pacjentów poniżej i powyżej 50 roku życia. Nie obserwowano także wpływu czasu trwania choroby, stopnia wyrównania cukrzycy (oceniającego stężenia HbA_{1c}) oraz palenia tytoniu na stężenie vWf i t-PA w cukrzycy typu 2, mimo że czas trwania cukrzycy i hiperglikemia odgrywają zasadniczą rolę w patogenezie powikłań naczyniowych. Podobnie brak istotnego wpływu tych parametrów klinicznych na stężenia vWf i t-PA w cukrzycowej retinopatii obserwowali inni autorzy [13, 14].

U chorych na cukrzycę typu 2 ze współistniejącym nadciśnieniem tętniczym autorzy stwierdzili istotnie podwyższone stężenie t-PA w porównaniu z chorymi bez nadciśnienia. Zatem oznaczenie takich substancji, jak vWf, TM czy t-PA może dostarczyć pewnych informacji na temat stopnia uszkodzenia śródbłonna naczyń w cukrzycy. Na podstawie uzyskanych wyników można sądzić, że w cukrzycy dochodzi do uszkodzenia śródbłonnków naczyń i uwalniania do krwi syntetyzowanych w nich substancji, m.in. vWf, TM i t-PA, których stężenie w razie rozległych zmian naczyniowych może się wyraźnie zwiększać. Publikacje na temat uszkodzenia śródbłonna naczyń w retinopatii są nieliczne. Natomiast w wielu pracach opisano wysokie stężenia wskaźników czynności śródbłonna, szczególnie vWf i TM, w nefropatii cukrzycowej w porównaniu z cukrzycą bez tego powikłania [15–18]. Wykazano także korelację stężeń vWf i t-PA z nasileniem albuminurii [19]. W nefropatii obszar uszkodzonego śródbłonna naczyń w nerce jest na pewno znacznie większy niż w oku. Stąd większe różnice w stężeniach substancji uwalnianych przez śródbłonek naczyń tych narządów.

Wnioski

1. We krwi chorych na cukrzycę typu 2 w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono istotnie podwyższo-

2. Sex, age, duration of the disease, concentration of HbA_{1c}, coexisting proliferative retinopathy and smoking have no influence on vWF and t-PA concentration in diabetes type 2.
3. Patients with diabetes and coexisting arterial hypertension have a significantly higher concentration of t-PA compared to diabetics without this complication.

References

1. Diabetes Control and Complication Research Group (1993) The effect of intensive treatment diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *New England J Med*, 329: 986–997.
2. UK Prospective Diabetes Study Group (1998) Intensive blood glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patient with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*, 352: 837–845.
3. Sherwin R, Feling O (1978) Pathophysiology of diabetes mellitus. *Med Clin North Am*, 62: 695–708.
4. Brownlee M (1994) Glycation and diabetic complications. *Diabetes*, 43: 836–841.
5. Wierusz-Wysocka B, Zozulińska D (2000) Wybrane mechanizmy patogenetyczne przewlekłych powikłań cukrzycy. *Diabetol Pol*, 7: 193–197.
6. Williamson JR, Chang K, Frangos M, et al. (1993) Hyperglycaemia, pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes*, 42: 801–813.
7. Vlassara H, Bucala R, Striker L (1994) Pathogenetic effects of advanced glycosylation: Biochemical, biological and clinical implications for diabetes and aging. *J Lab Invest*, 70: 138–151.
8. Cosentino F, Lüscher TF (1998) Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *J Cardiovasc Pharmacol*, 32 (Suppl 3): 54–63.
9. Feng D, Bursell SE, Clermont AC, Lipińska I, Aiello LP (2000) Von Willebrand factor and retinal circulation in early-stage retinopathy of type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 23 (11): 1694–1698.
10. Du Z, Jiang D, Tan J, Nie A, Tang C (1997) Changes of plasma t-PA and PAI activities in patients with diabetic retinopathy. *Yan-Ke-Xue-Bao*, 13: 17–20.
11. Fujiwara Y, Tagami S, Kawakami Y (1998) Circulating thrombomodulin and haematological alterations in type 2 diabetic patient with retinopathy. *J Atheroscler Thromb*, 5: 8–21.
12. Kotschy M, Polaszewska M, Moskal S, Będowska-Gontarz W, Sikorska Z (2001) Trombomodulina (TM) błonowy receptor trombiny w mikroangiopatii cukrzycowej. *Diabetol Pol*, 1 (vol. B): 3–4.
13. Walmsley D, Hampton KK, Grant PJ (1991) Contrasting fibrinolytic responses in type 1 (insulin dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetic Med*, 8 (10): 954–959.
14. Kessler L, Wiesel ML, Attali P, Mossard JM, Cazanave JP (1998) Von Willebrand factor in diabetic angiopathy. *Diabetes Metab*, 24 (4): 327–336.
15. Moris T, Takeuchi Y, Kawano M, Koni I (1995) Increased plasma level of immunoreactive endothelin and von Willebrand factor in NIDDM patients. *Diabetes Care*, 18 (1): 87–89.
16. Abayomi EA, Miller E, Paton RC (1996) Von Willebrand factor in diabetic retinopathy. *Centr Afr J Med*, 42 (7): 205–206.
17. Parving HH, Nielsen FS, Bang LE, Smidt UM, Svendsen TL (1996) Macro- microangiopathy and endothelial dysfunction in NIDDM patients with and without diabetic nephropathy. *Diabetologia*, 39 (12): 1590–1597.
18. Jager A, van Hinsbergh VW, Kostense PJ, Emeis JJ, Nijpels G (2001) Prognostic implications of retinopathy and a high plasma von Willebrand factor concentration in type 2 diabetic subject with microalbuminuria. *Nephrol Dial Transplant*, 16 (3): 529–536.
19. Fioretto P, Stehouwer CD, Mauer M, Chiesura-Corona M, Brocco E (1998) Heterogeneous nature of microalbuminuria in NIDDM: studies of endothelial function and renal structure. *Diabetologia*, 41 (2): 233–236.