

---

# Betatromboglobulina: Expresión de Activación Plaquetaria. Predictora de Trombosis Coronaria

---

Norma Uyema T. \*, Margarita Saenz M. \*\*,  
Reyna Rojas P. \*\*, Arturo Pareja C. \*\*\*, Juan Arbaiza \*\*\*\*

## RESUMEN

La activación plaquetaria, determinada por los factores de riesgo (FR), libera proteínas específicas de los gránulos citosólicos; entre ellas la betatromboglobulina (B-TG) es un marcador que indica adhesión y agregación plaquetarias lo que constituye un riesgo trombótico. En el presente trabajo se dosó la B-TG por técnica inmunológica de alta sensibilidad (ELISA) y se encontró relación directa positiva entre la incidencia de FRs y el nivel plasmático de B-TG la cual fue significativa  $p < 0,001$ ; en contraste, en el grupo control la B-TG estuvo dentro de límites normales.

Palabra claves: Betatromboglobulina, activación plaquetaria, trombosis.

## SUMMARY

Platelet activity determined by risk factors (RFs) release specific proteins from cytosolic granules; betatromboglobuline (B-TG) in one of them which is a marker that indicate platelet adhesion and aggregation and thrombosis risk. In this issue we determine B-TG by immunologic thecnic of high sensivity (ELISA). We found positive direct relation between RFs incidence and plasmatic B-TG level with significant value  $p < 0,001$ ; in contrast, in the control group B-TG was in normal range.

## INTRODUCCION

La activación plaquetaria es consecuencia de una lesión endotelial vascular denudante <sup>(1,2)</sup> o disfuncional <sup>(3,4)</sup> por la alteración de estructuras sub endoteliales, placas ateromatosas, complejos inmunes, hipoxemia <sup>(5)</sup>; superficies artificiales <sup>(6,7)</sup>; hiperactividad plaquetaria en Diabetes Mellitus (DM) I y II <sup>(8,9)</sup>; reactividad plaquetaria en hipercolesterolemia familiar <sup>(10)</sup>; homocistinuria homocigota <sup>(11,12)</sup>; ritmo circadiano con predominio diurno <sup>(13,14)</sup>; síndrome antifosfolípido reflejado por aumento de la excreción urinaria de metabolitos de Tromboxana A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) plaquetaria con biosíntesis anormal de prostaglandina I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) endotelial <sup>(15)</sup>.

En el 95 %, la causa de la lesión endotelial es la Aterosclerosis (AE) que ocasiona desequilibrio bioquímico de la plaqueta sanguínea (PS) por predominio de los agentes agonistas plaquetarios típicos que se unen a receptores específicos de la membrana plaquetaria (ADP, serotonina, colágeno, NE, Ca<sup>++</sup>) con formación de endoperóxidos y TxA<sub>2</sub> que refuerzan el proceso de agregación; y asimismo disminución o abolición de los antagonistas (PGI<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>1</sub>).

La PS es un elemento forme que circula normalmente en estado inactivo; pero cuando es activada cambia de forma mediante su sistema actino-miosina produce contracción y «reacción de liberación» y por los túbulos conectantes de superficie, que se abren durante la estimulación, secreta el contenido de sus gránulos.

Los gránulos alfa se encuentran en número de 60-80 en por PS y secretan, durante la activación plaquetaria, su contenido, en el cual la B-TG que es una proteína específica única <sup>(16,17)</sup> constituye el 10 %. La B-TG es producida por proteólisis de proteínas plaquetarias : la proteína básica plaquetaria (PBP) y el factor 4 plaquetario de baja afinidad (LA-PF-4) <sup>(18)</sup>. La determinación de B-TG en el plasma es un método no invasivo que sirve como un marcador biológico protrombótico <sup>(19)</sup> para evaluar la activación plaquetaria <sup>(20,21)</sup>. B-TG tiene vida media de 100 (cien) minutos; presenta débil actividad antiheparina e impide la producción de PGI<sub>2</sub> (prostaciclina) por las células endoteliales vasculares <sup>(22)</sup>; es excretada por el riñón y su nivel es inversamente proporcional al aclaramiento de creatinina <sup>(23)</sup>, por eso su medición es insegura en insuficiencia renal <sup>(24)</sup>. La concentración plasmática normal de B-TG fluctúa entre 10 y 40 UI/ml <sup>(25,26)</sup> y aumenta con la edad <sup>(27)</sup>.

(\*) Profesor Principalde la Universidad de San Martín de Porres – Médico Cardiólogo.

(\*\*) Profesor Asociado de la Universidad de San Martín de Porres – Patólogo Clínico.

Cuando la PS está activa o hiperactiva se adhiere y agrega entre sí por intermedio de las proteínas adhesivas secretadas: ADP de primera fase complejo GPIIb-GPIIIa-fibrinógeno de la superficie plaquetaria <sup>(28,29)</sup>, FvW, fibronectina y trombospondin el cual al unirse a la GP IV de la membrana y al fibrinógeno ya involucrado en el complejo GPIIb-GPIIIa, consolida la agregación haciendo casi irreversible el proceso. Las PS agregadas interactúan con la pared vascular lesionada donde se expone colágeno, ADP de segunda fase, trombina, (de peor pronóstico para la enfermedad coronaria) <sup>(30)</sup> fibrina, FvW, GPIb, fibronectina; esta unión es en el subendotelio o con las fibrillas del colágeno en las lesiones profundas. La lesión de la pared vascular estimula la generación de tromboplastina tisular (fosfolípidos y detritus tisulares) que activa la vía extrínseca de la coagulación. El conglomerado plaquetario, que constituye el rol central de la trombosis arterial, y la fibrina estable (acción de FXIIIa) establecen el trombo oclusivo arterial que, en el caso de las arterias coronarias, origina el IAM transmural y, menos frecuente, el IAM subendocárdico.

## MATERIAL

En este trabajo preliminar se estudió 69 personas, reunidos en : GRUPO CONTROL (GC) constituido por 20 voluntarios (11 varones, 09 mujeres) alumnos de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres y GRUPO PATOLOGICO (GP) formado por 49 pacientes (35 varones, 14 mujeres) institucionalizadas en el Hospital Nacional General «Dos de Mayo» (Cuadro No. 1). En ambos se realizó el mismo protocolo de Investigación, incluyendo interrogatorio y pruebas bioquímicas. En los dos grupos, - se denominó antecedentes Tipo A, a los provenientes de los padres con FRs, Antecedentes Tipo B, a los provenientes de familiares con FRs (CUADRO No. 2) y Antecedentes Personales, los FRs de cada uno (CUADRO No. 3).

## METODOS

La determinación de B-TG se realizó con extremo cuidado para evitar la activación plaquetaria ex vivo <sup>(31)</sup>. Se obtuvo la muestra de sangre, en ayuno no menor de 12 horas, por venopuntura usando el torniquete sólo para ubicar la vena, para evitar el éstasis venoso. Se recibió 4,5 ml en un tubo con 0,5 ml de anticoagulante conteniendo una mezcla de citrato y ácido cítrico al 3,2 % con teofilina, adenosina y dipiridamol; este medio se conoce como DIATUBE-H; se rompió el vacío de este tubo, antes de colocar la muestra, para evitar la activación plaquetaria in vivo. La muestra así preparada se puso en baño de agua helada a 2-8 °C hasta su procesamiento. Se centrifugó en centrifuga refrigerada a 2-8 °C a 2500 g por minuto. Se separó un tercio del volumen del plasma sobrenadante introduciendo una pipeta Pasteur en la región media para no aspirar las plaquetas ligeras de la superficie del plasma ni las plaquetas pesadas sobre la capa de hematies. La investigación cuantitativa se hizo mediante la técnica inmunológica de alta sensibilidad ELISA (enzyme-linked-immunosorbent-assay) debido a que la concentración en plasma de BTG es el orden de UI/ml (ó ng/ml). Se utilizó el equipo adquirido a la compañía comercial DIAGNOSTICA-STAGO, que usa el método de sandwich con un anticuerpo específico de conejo anti-B-TG cubriendo la placa como anti cuerpo de captura y anti-B-TG marcado con peroxidasa como anticuerpo marcador. La prueba se llevó a cabo por duplicado.

CUADRONº 1						
VARIABLE	GRUPO CONTROL			GRUPO PATOLOGICO		
	EDAD (años)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	EDAD (años)	PESO (Kg)	TALLA (cm)
MEDIA	21,7	66	169	58,8	64,4	165
DESV. TIPO	2,21	12,2	88	14,3	15,9	6,35
VALOR MIN.	19	50	158	24	37,	152
VALOR MAX.	30	90	185	85	118,	180

CUADRO N° 2						
GRUPO CONTROL				GRUPO PAT.		
	FR	n	%	FR	n	%
ANTECEDENTES TIPO A	HTA	08	40	HTA	05	10
	OBESIDAD	05	25	D.M.	04	8
	ENF. CORONARIA	03	15	ENF. CORONARIA	03	6
	D.M.	02	10			
ANTECEDENTES TIPO B	D.M.	06	30	HTA	06	12
	HTA	03	15	DM	06	12
	OBESIDAD	03	15	ENF. CORONARIA	03	6

CUADRO N° 3				
CARACTERISTICAS DE LOS GRUPOS ESTUDIADOS				
VARIABLE	GRUPO CONTROL		GRUPO PAT.	
	n	%	n	%
Consumo Tabaco	0	0.00	17	34.69
Diabetes Mellitus	0	0.00	25	51.02
Hipertensión arterial	3	15.00	19	38.78
Sobrepeso	3	15.00	11	22.45
Enfermedad Cardiovascular	6	30.00	9	18.37
Antecedentes Tipo A	17	85.00	13	26.53
Antecedentes Tipo B	15	75.00	15	30.61

Se analizó colesterol total (CT) por el método de la colesterol oxidasa y la coloración Trinder.

El HDL-Colesterol (HDL-C) se determinó precipitando las restantes fracciones con la mezcla fosfotúngstico / cloruro de magnesio y dosando el colesterol al igual que el CT.

Triglicéridos (TG) se dosó mediante el método de la lipasa/ glicerol quinasa/ glicerol oxidasa y la coloración Trinder.

LDL-Colesterol (LDL-C) se valoró mediante la fórmula de Friedwald:  $LDL-C = CT - (HDL-C)(TG/5)$ .

También se estableció las relaciones CT / HDL-C y LDL-C/HDL-C.

Los resultados fueron analizados y sometidos al procedimiento estadístico t-student.

En el Cuadro No.1 se observa que las características del GC son propias de una población estudiantil con una edad media de 21,7 años, con valores extremos entre 19 y 30. Del total de 20, predominó el sexo masculino con 11 (55 %) sobre 09 (45%) del sexo femenino. El GP tuvo una edad media de 58,8 años con valores extremos entre 24 y 85. Del total de 49, hubo 35 hombres (71,43%) Y 14 mujeres (28,57%).

En el cuadro No. 2 se aprecia que el Antecedente tipo A (de los padres) fue mas frecuente, en ambos grupos la HTA; con menor frecuencia se observó DM, enfermedad coronaria y obesidad. Con respecto al Antecedente tipo B (de los familiares), la DM e HTA fueron predominantes.

En el Cuadro No. 3 se evidencia en el GC que no hay FR en relación a tabaco y DM; hubo casos esporádicos y leves de HTA (15%); sobrepeso en 15%; signos cardiovasculares en 30%. Es interesante que en este grupo hubiera antecedentes de problemas cardiovasculares paternos en 85% y familiares en 75%.

En el GP se consigna la frecuencia de importantes FRs: consumo de tabaco 34,69%; DM,

51,02%; HTA, 38,78%; sobrepeso 22,45%; antecedentes de enfermedad cardiovascular en los padres, 26,53% y en los familiares, 30,61 %; la prevalencia enfermedad cardiovascular, en ellos mismos, fue de sólo 18,37%.

CUADRO N° 4						
VARIABLE	GRUPO	LIPIDOS SANGUINEOS (mg/dl)				SIGNIF (p)
		MEDIA	DESVIO TIPO	VALOR MINIMO	VALOR MAXIMO	
Colesterol Total	Control	143.4	19.13	120	188	< 0.001
	Patológico	194.5	60.04	116	360	
HDL Colesterol	Control	33.95	5.57	26	44	< 0.001
	Patológico	40.54	10.54	24	62	
LDL Colesterol	Control	93.95	19.06	67	145	< 0.001
	Patológico	132.81	52.30	76	275	
TRIGLICERIDOS	Control	62.55	28.91	43	146	< 0.001
	Patológico	106.15	78.45	39	250	
CT / HDL-C	Control	4.3	0.73	3.07	5.61	0.02
	Patológico	5.02	1.85	2.95	10.29	
LDL-C/HDL-C	Control	2.91	0.65	1.85	4.26	0.06
	Patológico	3.47	1.69	1.79	7.96	

En el Cuadro No.4 los valores de las fracciones de colesterol en las lipoproteínas estuvieron definitivamente diferentes en GC y GP, pero esto no se reflejó en los valores de las relaciones CT/HDL-C y LDL-C/HDL-C, debido a que el incremento de CT y LDL-C siempre se acompañó de incremento de HDL-C. Las relaciones estuvieron siempre dentro de la normalidad.

En el Cuadro No.5 se ve que en el GC la BTG presentó una media de 22,50 UI/ml que concuerda con la concentración media hallada en la literatura mundial para la población normal que es 22,40 UI/ ml. En cambio la población del GP tuvo un aumento evidente del valor de B-TG en 400% alcanzando un valor promedio de 98,74 UI/ml lo que con criterio estadístico tuvo alta significación  $p < 0,001$ .

CUADRON° 5		
VARIABLE	GRUPO CONTROL	GRUPO PAT.
MEDIA	22.58	98.79
DESV. TIPO	12.88	64.63
VALOR MIN.	6.50	21.00
VALOR MAX.	52.00	280.00
SIGNIFICADO (p)	< 0.001	

## DISCUSION

En este estudio llevado a cabo para evaluar la relación entre FRs y nivel de B-TG en el plasma, para predecir la formación de trombosis coronaria, hemos comparado una población control con otra con evidentes FRs. En el GC con una edad promedio de 21,7 años, y a pesar de presentar FRs personales y familiares, la media de B-TG en plasma se encontró en 22,58 UI/ ml. En el GP con una edad promedio de 58.8 años y con evidentes FRs personales y familiares, la media de B-TG fue 98,79 UI/ml con una diferencia significativa  $p < 0,001$ . Observando comparativamente el Cuadro No. 3 se advierte que la frecuencia de los Antecedentes Tipos A y B son casi similares en ambos grupos, sin embargo el nivel plasmático de B-TG está significativamente elevado en el GP. Esto sugiere algunas reflexiones: a) que el GP presentó otros FRs en porcentajes representativos, y con efecto aditivo, que favorecen la actividad plaquetaria y el incremento de B-TG plasmática; b) que la edad es

un factor cronológico decisivo que influye en el establecimiento de las lesiones básicas que preceden a las consecuencias de activación plaquetaria; c) que si bien la B-TG plasmática está elevada en los procesos trombóticos generalmente no lo está en las condiciones pretrombóticas <sup>(32,21)</sup>.

Toda vez que el proceso básico se puede instalar desde el nacimiento, por un defecto congénito, o ser adquirido por la agresión de un FR, se debe investigar el nivel de B-TG en cualesquiera edad de la vida en que se sospeche un proceso trombótico <sup>(33)</sup>. La importancia de esta evaluación y particularmente en el caso de las arterias coronarias, merece tomar en cuenta sus consecuencias: a) señala precozmente los FRs mayores y/o menores, únicos o combinados, precursores de la lesión endotelial, determinante de la activación plaquetaria que iniciará la trombosis; b) es obvio que una elevación del nivel de B-TG plasmática ya está significando una trombosis o el peligro de ella, por lo tanto cabe la exigencia de realizar una angiografía coronaria para verificar el grado de obstrucción; c) si un FR provoca un incremento del nivel de B-TG plasmática y no hay síntomas de obstrucción coronaria ni signos angiográficos aparentes, procede un estricto seguimiento; d) si por el incremento de la B-TG plasmática se realizó un estudio angiográfico coronario y se encuentra un grado variable de estenosis arterial, aún en ausencia de manifestaciones de insuficiencia coronaria (AP estable o AP inestable), se debe administrar trombolisis preventiva, preferentemente estreptokinasa y excepcionalmente angioplastia o arterectomía; e) en el caso que se encuentre nivel B-TG plasmático aumentado, como ocurrió en el GC de nuestro estudio, (CUADRO N° 5), sin ninguna manifestación estructural puede ser por tratarse de personas de corta edad o porque el proceso, aunque con un marcador bioquímico, se encuentra en estado incipiente.

La determinación de B-TG en plasma es mas predictiva de trombosis <sup>(7)</sup>, menos compleja su realización y de mejor aplicación clínica que la medición de metabolitos urinarios de tromboxana A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) <sup>(34)</sup>, la concentración plasmática del factor 4 plaquetario (PF-4) <sup>(30)</sup>, la dosificación de P-Selectin (proteína 140 - KD) <sup>(35)</sup> o la medición de micropartículas plaquetarias (PMP) <sup>(36,37)</sup>.

Todo esto incita trascendentalmente a estimar al paciente en riesgo coronario en un concepto integral considerando, mandatoriamente, todos los sucesos que, necesariamente, convergen para establecer la lesión irreversible.

El propósito de este trabajo es demostrar que la determinación de B-TG en el plasma indica un grado de activación plaquetaria que inicia y favorece el crecimiento del trombo arterial que es el episodio final de la cardiopatía esquémica coronaria <sup>(30,33,38)</sup>. Por lo tanto nivel alto de B-TG plasmática, mayor de 40 UI/ml, descartando otras posibilidades, es predictor de trombosis coronaria en pacientes con evidentes FRs.

## RECONOCIMIENTO

A la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres por haber auspiciado este trabajo de investigación.

## BIBLIOGRAFIA

---

1. **Faggioto A, Ross R, Harker L.** Studies of hypercholesterolemic in nonhuman primate: I change that lead fatty streak formation Arteriosclerosis 4. 323, 1984.
2. **Faggioto A, Ross R:** Studies of hypercholesterolemia in the nonhuman primate: II Fatty Streak conversion to fibrous plaque, Arteriosclerosis. 10: 164, 1990.
3. **Reidy MA, Schwartz SM;** Endothelial regeneration: III Time course of intimal changes after small defined injury to rat aortic endothelium. Lab. Invest. 44: 301, 1981.
4. **Reidy MA, Schwartz SM:** Endothelial injury and regeneration IV Endotoxim: A nondenuding injury to aortic endothelium. Lab. Invest. 48: 25,1983.
5. **Wedzicha JA, Sydercombe - Court D, Tan KC:** Increased platelet aggregate formation in patients with chronic airflow obstruction and hypoxaemia: Thorax 46: 50-7-1991.
6. **Abrahamson AF:** Platelet survival studies in man with pedal reference to thrombosis and atherosclerosis. Scand. J. Haematol. 3 (suppl) 1, 1968.
7. **Bellon JL, Castellanos C, Acevedo L, Amiral J:** Measurement of betatromboglobulina and platelet factor 4 to follow up patients with artificial heart valves: Seminars in Thrombosis. 19 Suppl.1: 178-82, 1995.

8. **Halushka PV, Lurie D, Colwell JA:** Increased synthesis of prostaglin E-like material by plateles from patients with Diabetes Mellitus. *N. Engl J. Med.* 207: 1306,1977.
9. **Kwand C, Jamart J, Doncker J, Chatelain B, Lavenne E, Moriam M, Buyschaert M:** Hemostasis variables in type I diabetic patients without demostrable vascular complications. *Diabetes care* 16 (8): 1137-45,1993.
10. **Cawvalho A, Colman RW, Loes RS:** Platelet function in hyperbetalipoproteinemia. *N. Engj. J. Med.* 290:434, 1974.
11. **Gerritsen T, Waisman H A:** Hemocystinuria. Cystathionine Synthasa deficiency. In Stambury J Bet al (eds) *The metabolic basis of inherited diseases*, 3er ed; New York, Mc Graw - Hill Book Co. pp 40-412, 1972.
12. **Harker LA, Slichter SJ, Scott CR:** Homocystenemia. *Vascular Injury and Arterial Thrombosis.*
13. **Tofler GA, Brezindki D, Schafer AI et al.** Concurrent morning increase in platelet aggregability and the risk of myocardial infraction and sudden cardiac death: *N. Eng. J. Med.* 316:1514, 1987.
14. **Pechan J, Mikulecky M, Okrucka A:** Circadian rithrn of plasma beta-troboglobuline in healthy human subjest. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 3 (1): 1057,1992.
15. **Carreras LO:** Anticuerpos antifosfolípidos. Un marcador de riesgo de trombosis: *Novedades del ICYCC. Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Fundación Favarolo Año 1, N° 2,1993.*
16. **Holmsen H; Mechanis-s of plateles secretion In:** *Platelets celular response mechanisms and biological significance* Roman A editor, 1981.
17. **Akkerrnan JWN, Niewiarowski S, Holmsen H:** Identification of granular heterogeneity in blood platelet by controlled digitonin - induced celllysis: *Thromb. Res.* 17: 249-54, 1980.
18. **Pepper Ds, Chesterrnan CN, Morgan FJ:** «Complete covalent structure of B-tromboglobuline»: *Am. Chem. Soco* 17:1739-44, 1978.
19. **Ferlitos S, Torrisi A, Marangios, Palermo A, Condorelli M, Mazzone D:** Stato thobofilico e cardiopatía isquemica - *Minerva - Cardioangial* 39 (5):167-76, 1991.
20. **Ludlam CA, Cash JD:** Studies on the liberation of Bthromboglobuline from human platelets in vitro: *Brit J. Haematol*33,239-247, 1976.
21. **Kaplan KL, Nossel HL, Drillings M, Lasznick G:** Radioinmunoassay of platelet factor 4 and B-thromboglobuline. Developament and application to studies of platelet release in relation to fibrinopeptide A generation *Br. J. Haematol*39:129, 1978.
22. **Hope W. et al:** Beta-thromboglobulina inhibitis PGI<sub>2</sub> production and binds to specific site on bovine cells: *Nature* 282, 210, 1979.
23. **Guzzo J, Niewiaruwskis, Musial J, et al:** Secreted platelet proteins with antiheparim and mitogenic activities in chronic renal failure: *J. Lab. Clin. Med.* 96:102,1980.
24. **Akzawat, Kingresa E, Kitaoka T, Koshikawa S:** Effects af recombinant human ery thropoietin and correction of anemia on platelet function in hemodialysis patterns: *Nephron* 58:400,1991.
25. **Zahavi J, Kakkar VV:** B-thromboglobulin a specific marker of in vivo platelet release reaction. *Thromb. Haemostasis* 44: 23-29, 1980.
26. **Conard, Terres E, Baillet M, Horellou MH, Jaulmes B, Samama M, Baillet J:** Variations de la B-thromboglobulin au cours de la contraception orale des valvulopatías: *Med* 10: 1327-1329, 1987.
27. **Zahavi J, Cella C, Duviel M, Kakkar VV:** The variability of plasma B-thromboglobulin in healthy individuals: *Thromb. Haematosi*s 40: 585-587, 1978.
28. **Phillips DR, Charo IF, Parise LV, Fitzgerald LA:** *Blood* 71: 831-43, 1988.
29. **Grinsberg MH, Loftus JC, Plow EF:** *Thromb. . Haemostas* 59: 1-6, 1988.
30. **Lam JY, Latour JG, Lesperance J, Waters D:** Platelet aggregation coronary artery disease and furute coronary events: *Am-LCardial:* 73 (5) 333-8, 1994.
31. **Levine Sp, Suarez AJ, Sorensen RR, Knieriem LK, Raymond NM:** The importance of blood collection methods for assessment of platelet activation: *Thromb Res.* .24: 433, 1981.
32. **Handin RI, MC Donough M, Lasch M:** Elevation of platelet factor 4 in acute myocardial infaretion. Measument by radioinrnunoassay: *J. Lab. Clin. Med.* 91: 340, 1978.
33. **Picón E. Alvarado-Ortiz C:** Lipidemia en niños: un análisis de las alteraciones en nuestro medio: *Diag-nóstico* 32: 56-65, 1993.
34. **Foegh ML, Khirabi BS, Shapiro R. et al:** Monitoring of rat heart allograft rejection by urinary thromboxane: *Transplant. Proc.* 16:1606, 1984.
35. **Chong BH, Murray B, Berndt MC, Brighton T, Chesterman CN:** Plasma P-selection in increased in thrombotic consumptive platelet: *Blood* 83 (6): 1535-41, 1994.
36. **George JN, Thoi LL, Mc Manus LM, Reimann TA:** Isolation of Human Platelet Membrane Microparticles From Plasma and Serum: *Blood* 60 (4) 834-40, 1982.
37. **Jy W. Horstman LL, Arce M, Ahn YS:** Clinical significance of platelet microparticles in autoinnune thrombocitopenias: *J. Lab. Clin. Med.* 119: 334-45, 1992.
38. **Nilsson J et al:** Association between high level of growth factors in plasma and progression of coronary atherosclerosis: *J. Int. Med.* 232-397, 1992