

Comportamiento de las Plaquetas y de los Índices Plaquetarios frente a Patologías Cardiovasculares en UTI

TRABAJO FINAL

Carrera de Especialización en Hematología

Facultad de Ciencias Químicas

Universidad Nacional de Córdoba



Bioq. María Eugenia Vidart Mercado

2014

RESUMEN

Las Enfermedades Cardiovasculares representan actualmente una de las patologías con mayor incidencia en la población de edad adulta. Su origen es multifactorial pero sin dudas las plaquetas, cumplen un rol primordial.

Se estudiaron en 84 pacientes con diagnóstico de Enfermedad Cardiovascular en 3 estadios: (Agudo, Crónico Reagudizado y Crónico) el comportamiento de las plaquetas y los índices plaquetarios al momento del ingreso a la Unidad de Terapia Intensiva y se los comparó con un grupo control.

En el análisis de la varianza (ANOVA), mostró en nuestra población que las plaquetas tienen un recuento significativamente mayor sólo en pacientes con enfermedades Agudas y Crónicas Reagudizadas ($p = 0,0036$), el VPM y el PDW son significativamente mayores en los tres estadios de la Enfermedad Cardiovascular ($p < 0,0001$) y el PCTO no mostró diferencias significativas entre los grupos en estudio ($p = 0.3844$). A través del Análisis Multivariado se logró discriminar el 99.0% de los pacientes y se puede concluir que el número de Plaquetas discrimina entre individuos control y los 3 grupos patológicos. Además, que la variable que más aporta a la discriminación a favor de los pacientes Crónicos del resto de los grupos es el PCTO.

En la práctica clínica, interpretar y relacionar los índices plaquetarios podría ser de utilidad no solo por la información que proporcionan, sino también por el bajo costo y la simpleza que implica su determinación.

Palabras Claves: Enfermedad Cardiovascular, Plaquetas, Volumen plaquetarios Medio, Amplitud de Distribución Plaquetaria, Plaquetocrito.

INTRODUCCION

En la Argentina, para el año 2005, las enfermedades cardiovasculares representaron la primera causa de mortalidad (35% del total), con una incidencia de 249,6 cada 100.000 habitantes¹. En el año 2009, del total de fallecimientos, el 29.5% fueron por causas cardiovasculares². La integridad del árbol vascular, unas plaquetas normales, tanto en número como en actividad funcional y un adecuado funcionamiento de los mecanismos de coagulación y fibrinólisis son requeridos para evitar las enfermedades cardiovasculares. Factores de riesgo tanto endógenos como exógenos tales como obesidad, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, hipertensión, tabaquismo, hábitos alimentarios y el estrés, de manera individual o combinados, contribuyen al desarrollo de este tipo patologías³. Existe evidencia de que las plaquetas desempeñan un papel clave en la cardiopatía isquémica, como la histología de trombos en vasos coronarios, el hallazgo de émbolos plaquetarios en la microcirculación o de trombos oclusivos detectados por angiografías⁴.

Las plaquetas son células heterogéneas en cuanto al tamaño, densidad y actividad y desde hace un tiempo, los investigadores se están enfocando en ellas debido a que cualquier alteración de sus parámetros puede estar implicada en la fisiopatología de la enfermedad aterosclerótica. Desempeñan un papel clave en el desarrollo de los Síndromes Coronarios Agudos, contribuyen en los eventos cerebrovasculares y además participan en el proceso formación y extensión de placas ateroscleróticas en Procesos Coronarios Crónicos. En todos los casos, las plaquetas son una fuente de mediadores inflamatorios⁵.

Desde hace unas décadas, se ha debatido sobre el origen de la heterogeneidad en el tamaño de las plaquetas y se pensaba que a medida que éstas envejecían, disminuían su tamaño. Karpatkin⁶ y Corash y col⁷ concluyeron que, al menos en sus estudios con conejos, el tamaño y la densidad de plaquetas podía cambiar

durante la vida de estos animales. En estudios posteriores, Thompson y col.⁸ demostraron que la heterogeneidad del volumen de las plaquetas no está relacionada con el envejecimiento en la circulación, sino que surge en la trombopoyesis debido al aumento de la concentración del ADN en el núcleo de los megacariocitos. Por esto, las plaquetas que se producen en médula ósea, son de mayor tamaño, no se consumen en circulación tan fácilmente y por lo tanto, pueden aumentar los valores del VPM⁹.

A mayor tamaño se vuelven hiperreactivas y aceleran la formación de trombos intracoronarios pudiendo dar lugar a una cascada de acontecimientos clínicos como por ejemplo el Síndrome Coronario Agudo¹⁰.

Se ha encontrado que el volumen medio de las plaquetas (VPM) aumenta en el momento en que un paciente sufre un Infarto Agudo de Miocardio y en estudio realizado por Martin y col¹¹, este aumento es acompañado por un significativo aumento de la densidad de las plaquetas cuando se la midió a las 12 hs de ocurrido el evento, lo que demostró el incremento de los gránulos secretores y de mitocondrias. Dado que el tiempo de vida media de la plaqueta en circulación es de 10 días y que las características morfológicas y funcionales de las plaquetas son genéticamente determinadas en el momento de la fragmentación de su célula madre; el megacariocito; el 90% de la población plaquetaria preexiste al momento en que se produce un evento oclusivo, se dedujo que el VPM se incrementa antes del IAM⁷.

En un trabajo presentado por Pizzulli y col¹² se demostró un aumento del VPM en pacientes con Angor Pectoris junto a una disminución del recuento de plaquetas y que estas plaquetas mas grandes contribuían a la formación de trombos en la arteria coronaria.

También se ha descripto que las plaquetas tienen algún rol, en un contexto de disfunción endotelial, en el proceso inflamatorio de la aterogénesis. La unión de las plaquetas al endotelio denudado ocurre a través de las moléculas P-selectina/PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1), luego por unión GPIb/FVW y

posteriormente vía integrinas (GPIIb-IIIa/ICAM-1). Así las plaquetas se activan y secretan moléculas que favorecen el proceso inflamatorio propio de la aterogénesis, propiciando la activación del endotelio, atrayendo monocitos y más plaquetas que se reclutan debido a la alta expresión de ADP, TxA₂ y Serotonina, lo que amplifica el fenómeno¹³.

La respuesta inflamatoria, medida a través de la Proteína C Reactiva y la IL-6 cuyos niveles fueron encontrados aumentados en pacientes con Angina Inestable, están involucrados en el Síndrome Coronario Agudo ya que son potentes inductores en los cambios morfológicos de las plaquetas¹⁴.

Las plaquetas más grandes se agregan rápidamente con colágeno y ADP, contienen más gránulos densos, producen mayor cantidad de factores protrombóticos como tromboxano A₂, serotonina y trombomodulina que las plaquetas de tamaño normal¹⁵, sufren un cambio conformacional de la GPIIb-IIIa que une fibrinógeno y FVW¹⁶. Como estas plaquetas de mayor tamaño son más reactivas, el volumen plaquetario medio (VPM) aumenta reflejando el estado actual de la trombogénesis¹⁷.

En los laboratorios de hematología es frecuente el hallazgo de anomalías cuali y cuantitativas de las plaquetas y la interpretación de los índices plaquetarios como el Volumen Plaquetario Medio (VPM), la Ampliación de Distribución Plaquetaria (PDW) y el Plaquetocrito (PCT), que en la actualidad son determinados por la mayoría de los contadores hematológicos automáticos, podrían utilizarse como una herramienta diagnóstica en distintas situaciones patológicas aunque para algunos autores sea algo controvertido¹⁸. Se cree que el VPM está influenciado por determinados anticoagulantes¹⁹, por el tiempo transcurrido desde la extracción de la muestra hasta su determinación⁴⁻²⁰ y por la presencia en sangre periférica de artefactos como fragmentos de eritrocitos y blastos leucémicos, que influirían en la distribución del volumen plaquetario y la aparente relación de éste con el conteo plaquetario²¹.

En síntesis, la integridad del árbol vascular, factores de riesgo tanto endógenos como exógenos y un recuento plaquetario y morfológico normal deberían ser tenidos en cuenta frente a la Enfermedad Cardiovascular. Las plaquetas de mayor tamaño reflejan el estado actual de la trombogénesis, son plaquetas hiperreactivas con alto contenido de gránulos densos y mitocondrias, tienen mayor agregabilidad frente a determinados agonistas, producen mayor cantidad de factores protrombóticos y son una fuente de mediadores inflamatorios que participan en el proceso de la aterogénesis.

OBJETIVOS GENERALES

El presente trabajo pretende analizar el número de Plaquetas y los Índices Plaquetarios (VPM, PDW y PCTO) con la enfermedad cardiovascular en pacientes internados en la Unidad de Terapia Intensiva II (UTI) del Hospital San Roque de la Provincia de Córdoba que aloja pacientes con patologías que van desde infecciosas, neoplásicas, cardiológicas, renales, neurológicas, hematológicas, gastrointestinales y respiratorias entre otras, hasta politraumatismos y postquirúrgicos con requerimientos de cuidados intensivos.

En la actualidad, los Índices Plaquetarios no son solicitados por el personal médico al Servicio Bioquímico de nuestro nosocomio. Los resultados obtenidos podrían aportar información de utilidad al médico terapeuta al momento del ingreso de nuevos pacientes, siendo éste el principal estímulo para la realización del presente trabajo de investigación.

El objetivo de este estudio es entonces investigar el comportamiento del Recuento de Plaquetas y los Índices Plaquetarios en grupos de pacientes con diagnóstico de Enfermedad Coronaria Aguda, Crónica Reagudizada y Crónica de nuestra población hospitalaria, en comparación con un Grupo Control, evaluando la posibilidad de que los mismos puedan contribuir al pronóstico del paciente. Se

plantea como hipótesis que estos parámetros se modifican en las Enfermedades Coronarias Agudas, Crónicas Reagudizadas y Crónicas, observadas en la Unidad de Terapia Intensiva II del Hospital San Roque.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo y observacional a 84 pacientes admitidos en la Unidad de Terapia Intensiva II del Hospital San Roque en el período comprendido entre junio de 2011 a diciembre de 2012, con diagnóstico de Enfermedad Cardiovascular, con edades comprendidas entre los 31 y 76 años de ambos sexos, sin exclusión de procedencia o antecedentes personales o familiares.

Al momento del ingreso a UTI se tomaron muestras de sangre para la realización del Recuento de Plaquetas y de los Índices Plaquetarios por medio del autoanalizador hematológico SYSMEX XT2000i que usa el sistema de impedancia con enfoque hidrodinámico y se evaluaron las historias clínicas para conocer la patología que motivó el ingreso a UTI.

Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción arterial y recolectadas en tubos con EDTA K₃ (DVS). Para asegurar la confiabilidad de los datos obtenidos por el contador hematológico SYSMEX XT 2000i se utilizaron los controles indicados por el fabricante, además de participar nuestro Servicio en el Programa de Evaluación Externa Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina. Las muestras fueron analizadas antes de las dos horas posteriores a su extracción, con el propósito de eliminar las distorsiones producidas por el EDTA.

Se estudiaron cuatro grupos de individuos, Grupo A: pacientes ingresados a la Unidad de Terapia Intensiva con diagnóstico de Enfermedad Cardiovascular Aguda, Grupo CR: pacientes ingresados a la Unidad de Terapia Intensiva con diagnóstico de Enfermedad Cardiovascular Crónica Reagudizada, Grupo C:

pacientes ingresados a la Unidad de Terapia Intensiva con diagnóstico de Enfermedad Cardiovascular Crónica y Grupo S: individuos controles sanos sin antecedentes de Enfermedad Cardiovascular ni factores de riesgo cardiovascular. Los Valores de Referencia tenidos en cuenta para este trabajo son, para el Recuento de Plaquetas: 150 a 450 x10⁹ /L y los valores medios considerados normales para el equipo utilizado son para VPM de 8,2 ± 1,9 fL, para el PDW de 16,3 ± 1,0 % y para el PCTO de 0.23 ± 0,08 %.

ANALISIS ESTADISTICO:

Para evidenciar si existían diferencias en el recuento plaquetario y los índices plaquetarios entre los grupos de pacientes se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y Análisis Multivariado. Para el procesamiento de los datos se utilizó el software estadístico Infostat Versión 2013I.

RESULTADOS:

La edad media de los pacientes fue de 55.11 ± 10.72 años, el 64.3% pertenecían al sexo masculino y el 35.7% al femenino. El recuento de plaquetas y los índices plaquetarios por grupos de la población en estudio se muestran en la Tabla I y se ilustran en la Figura 1

Variable	A (n=17)	C (n=47)	CR (n=20)	S (n=100)
PLAQUETAS (10 ⁹ /L)	224,53 ± 66,45	240,23 ± 93,91	204,85 ± 66,24	264,22 ± 64,7
VPM (fL)	11,75 ± 0,94	14,38 ± 16,96	11,75 ± 0,88	10,51 ± 0,91
PDW (%)	15,52 ± 2,23	15,24 ± 2,27	15,62 ± 2,21	13,03 ± 1,90
PCTO (%)	0,26 ± 0,06	0,29 ± 0,11	0,26 ± 0,06	0,27 ± 0,05

Tabla I: Medias y desviaciones estándar de número de plaquetas y los índices plaquetarios por grupos de la población en estudio.

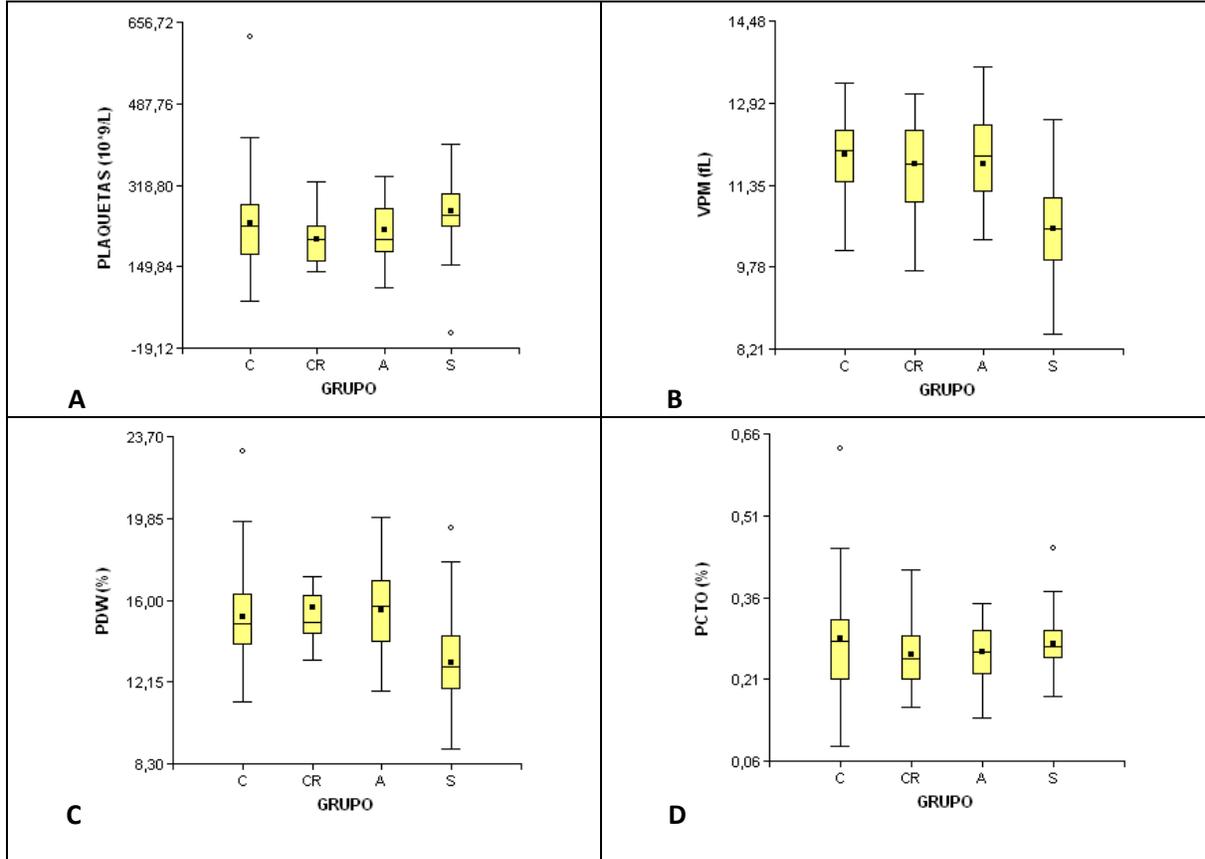


Figura 1: Medias y desviaciones estándar de las cuatro variables en estudio particionadas por Grupo A: plaquetas, B: VPM, C: PDW y D: PCTO

- *Plaquetas*

Se observaron diferencias altamente significativas (estadístico F del ANOVA = 4.66, $p < 0,01$) en el conteo de plaquetas medio entre los grupos analizados (pacientes y controles). La Tabla II y la Figura 2 resumen los resultados de los recuentos plaquetarios hallados en los individuos controles y en los distintos grupos de pacientes en estudio. Considerando los resultados del ANOVA, se estimó la diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher al 5% para identificar los grupos que diferían entre sí. Para ello, se observó que la población control posee

una media plaquetaria mayor no significativa respecto al grupo de pacientes con patologías Crónicas y un valor significativamente mayor respecto a los grupos de pacientes con enfermedades Agudas y Crónicas Reagudizadas.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PLAQUETAS	184	0,07	0,06	29,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	75733,50	3	25244,50	4,66	0,0036
Grupos	75733,50	3	25244,50	4,66	0,0036
Error	974208,31	180	5412,27		
Total	1049941,80	183			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=34,42987

Error: 5412,2684 gl: 180

Grupos	Medias	N	E.E.		
CR	204,85	20	16,45	A	
A	224,53	17	17,84	A	
C	240,23	47	10,73	A	B
S	264,22	100	7,36		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla II: Análisis de la Varianza (ANOVA) para Recuento de Plaquetas.

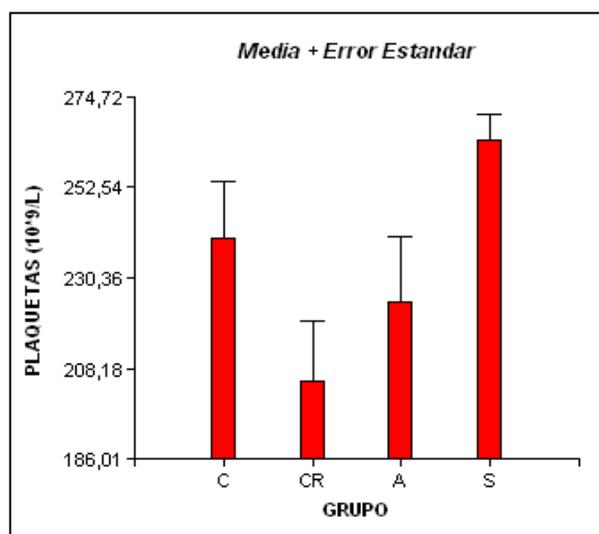


Figura 2: Valores medios mas error estándar de plaquetas por Grupos.

Referencias:

C: Pacientes Crónicos

CR: Pac. Crónicos Reagudizados

A: Pacientes Agudos

S: Individuos Control

- **VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO (VPM)**

El análisis estadístico mostró diferencias altamente significativas (estadístico F del ANOVA = 33,91, $p < 0,01$) en el valor medio del VPM entre los grupos analizados (pacientes y controles). La Tabla III y la Figura 3 resumen los resultados del VPM hallados en los individuos controles y en los diferentes grupos de pacientes. Considerando los resultados del ANOVA, se estimó la diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher al 5% para identificar los grupos que diferían entre sí. Para ello, se observó que la población control posee una media de VPM menor estadísticamente significativa respecto a los tres grupos de pacientes.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VPM	184	0,36	0,35	8,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	82,57	3	27,52	33,91	$p < 0,0001$
Grupos	82,57	3	27,52	33,91	$p < 0,0001$
Error	146,11	180	0,81		
Total	228,68	183			

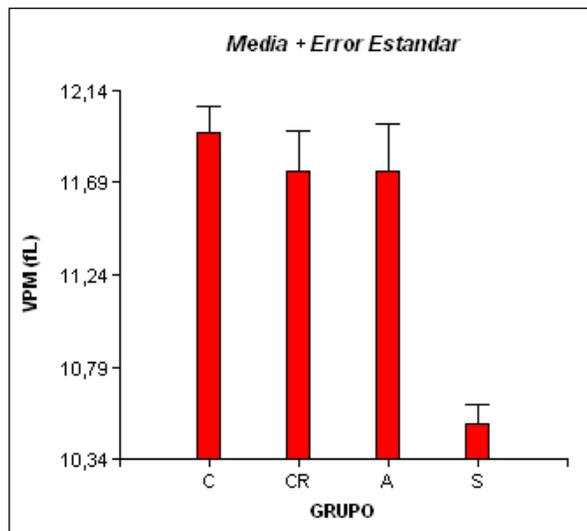
Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,42165

Error:0,8117 gl: 180

Grupos	Medias	n	E.E.		
S	10,51	100	0,09	A	
CR	11,75	20	0,20		B
A	11,75	17	0,22		B
C	14,38	47	0,13		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla III: Análisis de la Varianza (ANOVA) para VPM.



Referencias:

C: Pacientes Crónicos

CR: Pac. Crónicos Reagudizados

A: Pacientes Agudos

S: Individuos Control

Figura 3: Valores medios mas error estándar de VPM por Grupos.

- **AMPLITUD DE DISTRIBUCION PLAQUETARIA (PDW)**

Se observaron diferencias significativas (estadístico F del ANOVA= 20,12, $p < 0,01$) en el valor medio de PDW entre los grupos analizados (pacientes y controles). La Tabla IV y la Figura 4 exponen los resultados de PDW hallados en los individuos controles y en los diferentes grupos de pacientes. Al igual que a los parámetros analizados anteriormente, se estimó la diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher al 5% para identificar los grupos que diferían entre sí. Para ello, se observó que la población sana posee una media de PDW menor claramente significativa respecto a los tres grupos de pacientes.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PDW	184	0,25	0,24	14,62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	256,61	3	85,54	20,12	<0,0001
Grupos	256,61	3	85,54	20,12	<0,0001
Error	765,25	180	4,25		
Total	1021,86	183			

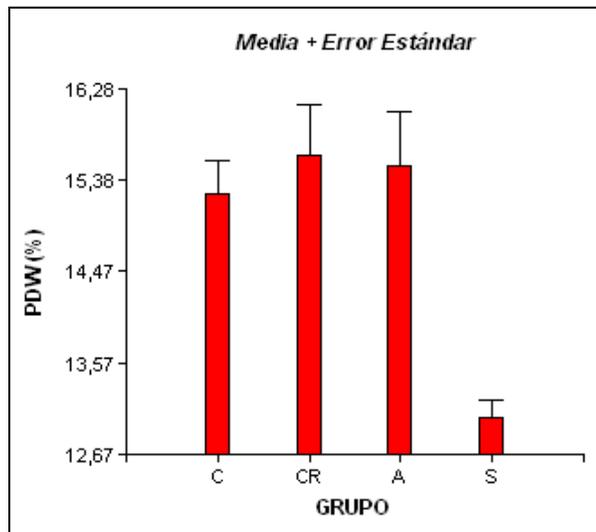
Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,96497

Error: 4,2514 gl: 180

Grupos	Medias	n	E.E.		
S	13,03	100	0,21	A	
C	15,24	47	0,30		B
A	15,52	17	0,50		B
CR	15,62	20	0,46		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla IV: Análisis de la Varianza (ANOVA) para PDW.



Referencias:

C: Pacientes. Crónicos

CR: Pac. Crónicos Reagudizados.

A: Pacientes Agudos

S: Individuos Control.

Figura 4: Valores medios mas error estándar de PDW por Grupos.

- **PLAQUETOCRITO (PCTO)**

En este caso el estadístico F del ANOVA fue de 2,89, con una $p < 0,01$ en el valor medio del PCTO entre los grupos analizados (pacientes y controles). La Figura 5 y la Tabla V resumen los resultados de PCTO hallados en los individuos controles y en los diferentes grupos de pacientes. Considerando los resultados del ANOVA, se estimó la diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher al 5% para identificar los grupos que diferían entre sí. Se observó que la población control posee una media de PCTO similar a los cuatro grupos en estudio.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PCTO	184	0,02	$3,5 \times 10^{-4}$	25,91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,02	3	0,01	1,02	0,3844
Grupo	0,02	3	0,01	1,02	0,3844
Error	0,91	180	0,01		
Total	0,92	182			

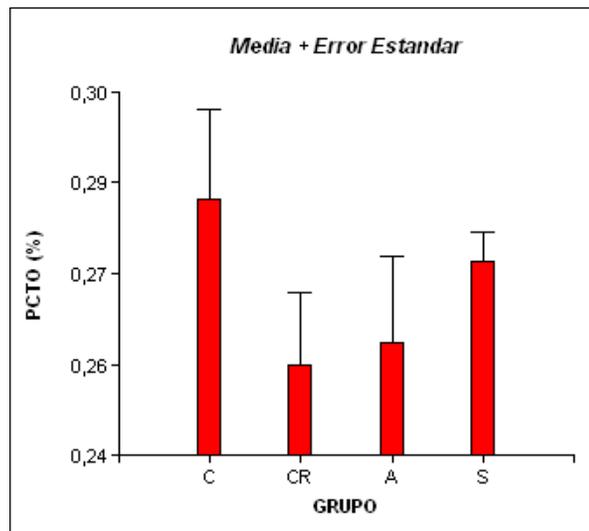
Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,88269

Error: 3,5118 gl: 179

Grupo	Medias	n	E.E.		
A	0,26	17	0,02	A	
S	0,27	100	0,01	A	
C	0,29	47	0,01	A	
CR	0,26	19	0,02	A	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla V: Análisis de la Varianza (ANOVA) para PCTO.



Referencias:

C: Pacientes Crónicos

CR: Pac. Crónicos Reagudizados

A: Pacientes Agudos

S: Individuos Control

Figura 5: Valores medios mas error estándar de PCTO por Grupos.

❖ Análisis Multivariado de los Componentes Principales:

Por medio de esta prueba estadística se puede analizar simultáneamente conjuntos de datos multivariantes. Este método muestra cómo están relacionadas las variables de los cuatro grupos entre sí (Tabla VI).

Variables de Clasificación: Grupo

Lambda	Valor	Proporción	Prop. Acum.
1	2,99	0,75	0,75
2	0,97	0,24	0,99
3	0,04	0,01	1,00
4	0,00	0,00	1,00

Autovectores

Variables	e1	e2
PLAQUETAS	0,56	0,19
VPM	-0,50	0,50
PDW	-0,56	0,25
PCTO	0,34	0,81

Tabla VI: Análisis de los componentes principales

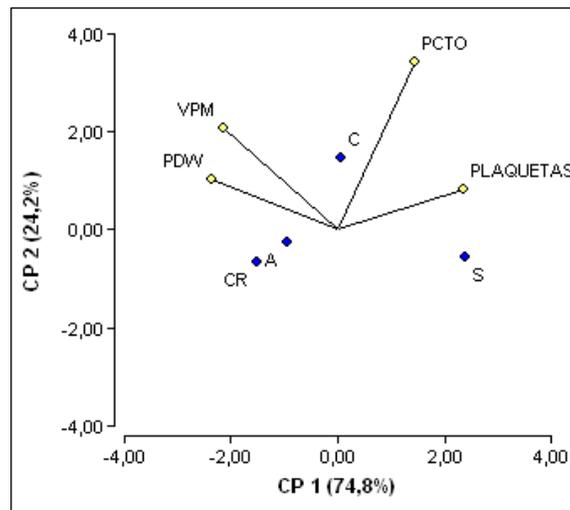


Figura 6: Gráfico de los Componentes Principales.

A través de la Figura 6 se observa que las 4 variables utilizadas, logran discriminar el 99.0% de los pacientes. Desde el plano de análisis 1 (CP1) se puede decir que el número de Plaquetas discrimina entre individuos Control (Grupo S) y los 3 grupos patológicos, Agudos (Grupo A), Crónicos Reagudizados (Grupo CR) y Crónicos (Grupo C). En otro plano (CP2), la variable que aporta mucho a la discriminación para los pacientes Crónicos (Grupo C) del resto de los grupos es el PCTO.

Además, la variable PDW, no logra discriminar entre pacientes Agudos y Crónicos Reagudizados. A su vez, la variable VPM no discrimina entre los distintos grupos de pacientes.

DISCUSIÓN:

El presente trabajo representa un estudio de pacientes afectados por Patologías Cardiovasculares, clasificadas por estadio de evolución en donde se evaluó y relacionó el comportamiento de las plaquetas, tanto en número como en aquellos índices que representan características morfológicas en 84 pacientes internados

en la Unidad de Terapia Intensiva II del Nuevo Hospital San Roque, durante un periodo de 18 meses, contra un grupo de individuos control.

En esta población se encontró un predominio de pacientes del sexo masculino frente al femenino, aunque en todos se observó un recuento plaquetario menor en comparación con el grupo control.

El VPM y el PDW se encontraron elevados en los pacientes con Enfermedad Cardiovascular, sin distinción de grupos respecto del grupo control tal como lo describen en sus trabajos Chu y col²² y Zare Mirzaie y col²³. El PCTO no mostró valores distintos del grupo control.

Del análisis estadístico del recuento plaquetario discriminado por grupos, se observó que los pacientes con patologías Agudas y Crónicas Reagudizadas poseen un número de plaquetas significativamente mayor que aquellos que cursan con patologías Crónicas. Inversamente ocurre con el VPM siendo mayor en los pacientes Crónicos que en los Agudos y los Crónicos Reagudizados.

En el análisis de PDW se observó un valor mayor en la población en estudio con respecto al grupo control, aunque no discrimina por grupo de pacientes.

El PCTO, como se mencionó anteriormente, no discriminó entre pacientes controles y patológicos aunque el Análisis Multivariado lo muestra como el único índice plaquetario que logra discriminar a los pacientes Crónicos de los demás grupos.

CONCLUSIONES:

Las plaquetas desempeñan un papel fundamental en la Enfermedad Cardiovascular. Conocer, interpretar y relacionar los índices plaquetarios podría ser de utilidad en el ámbito médico, no solo por la información que proporcionan, sino también por el bajo costo y la simpleza que implica su determinación de forma rutinaria en el Laboratorio. En el contexto de la Patología Cardiovascular,

estos parámetros tienen comportamientos propios que acompañan al cuadro clínico y que fueron estudiadas en este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Dirección de Promoción y Protección de la Salud. Boletín de Vigilancia de Enfermedades No Transmisibles y Factores de Riesgo N°1. *Tendencias Cardiovasculares* 2009;33-50.
- ² Daniel Ferrante, Bruno Linetzky, Jonatan Konfino, Ana King, Mario Virgolini, Sebastian Laspiur. Encuesta Nacional de Factores de Riesgo 2009: evolución de la epidemia de enfermedades crónicas no transmisibles en Argentina. Estudio de corte transversal. *Rev. Argentina de Salud Pública*, 2011; 2(6):34-41.
- ³ Khandekar M, Khurana A.S., Deshmukh S.D., Kakrani A.L., Katdare A.D., Inamdar A.K.. Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario. *J. Clin. Pathol.* 2006;59:146–149.
- ⁴ Elwood P.C., Renaud S., Beswick A.D., O'Brien J.R., Sweetnam P.M.. Platelet aggregation and incident ischaemic heart disease in the Caerphilly cohort. *Heart* 1998;80:578–582.
- ⁵ Giovanni D., Patrono C.. Platelet Activation and Atherothrombosis. *N. Engl. Journal Med* 2007; 357:2482-94.
- ⁶ Karpatkin S. Heterogeneity of human platelets. Functional evidence suggestive of young and old platelets. *J. Clin. Invest.* 1969;48:1083–1087.
- ⁷ Corash L, Shafner B. Use of asplenic rabbits to demonstrate that platelet age and density are related. *Blood.* 1982;60:166–171.

-
- ⁸ Thompson C.B., Love D.G., Quinn P.G., Valeri C.R.. Platelet size does not correlate with platelet age. *Blood*. 1983;62:487–494.
- ⁹ Y. Isloglamu, F. Ertas, H. Acet, M.A. Elbey, O. Evliyaogllu, E. Tekbas, H. Cil, Z. Atilgan, H. Kaya, F. Kayan, M.S. Ülgen The association between mean platelet volume and coronary collateral circulation. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2013;17: 276-279.
- ¹⁰ Slavka G., Perkmann T., Haslacher H., Greisenegger S., Marsik C., Wagner O.F., Endler G.. Mean Platelet Volume May Represent a Predictive Parameter for Overall Vascular Mortality and Ischemic Heart Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31:1215-1218.
- ¹¹ Martin JF, Plumb J, Kilbey RS, Kishk YT. Changes in volume and density of platelets in myocardial infarction. *BMJ*. 1983;287:456–459.
- ¹² Pizzulli L, Yang A, Martin JF, Luderitz B. Changes in platelet size and count in unstable angina compared to stable angina or non cardiac chest pain. *Eur Heart J*. 1998;19:80–84.
- ¹³ Palomo I., Moore-Carrasco R., Alarcón M., Rojas A., Mujica V, Hasbun S. Fisiopatología del estado protrombótico en el síndrome metabólico. *Acta Médica Colombiana* 2009;34(2),80-84.
- ¹⁴ Burstein SA, Downs T, Friese P, Lynam S, Anderson S, Henthorn J, Epstein RB, Savage K. Thrombocytopoiesis in normal and sublethally irradiated dogs: response to human interleukin-6. *Blood*. 1992;80:420–428.

¹⁵ J.F. Martin, E.A. Trowbridge, G. Salmon, J. Plumb. The biological significance of platelet volume: Its relationship to bleeding time, platelet thromboxane B₂ production and megakaryocyte nuclear DNA concentration. *Thrombosis Research*, 1983; 32: 443–460.

¹⁶ Palomo I., Moore-Carrasco R., Alarcón M, Rojas A., Mujica V., Hasbun S. *Acta Médica Colombiana* 2009 (34);80-84.

¹⁷ Hyun-Ah Chang, Hwan-Sik Hwang, Hoon-Ki Park, Min-Young Chun, Ja-Young Sung. The Role of Mean Platelet Volume as a Predicting Factor of Asymptomatic Coronary Artery Disease. *Korean J Fam Med*. 2010;31:600-606.

¹⁸ Graham SS, Traub B, Mink IB. Automated platelet-sizing parameters on a normal population. *Am. J Clin. Pathol*. 1987; 365-369.

¹⁹ Bath PMW. The routine measurement of platelet size using sodium citrate alone as the anticoagulant. *Thromb. Haemost.* 1993; 70:687-690.

²⁰ Threatte GA, Adrados C, Ebbe S, Brecher G. Mean platelet volume: the need for a reference method. *Am. J. Clin. Pathol*. 1984; 81:769-772.

²¹ Bressman J.D., Williams L.J., Gilmer P.R.. Mean platelet volume. The inverse relation of platelet size and count in normal subjects, and artifact of other particles. *Am J Clin Pathol* 1981; 76:289-293.

²² Chu SG, Becker RC, Berger PB, Bhatt DL, Eikelboom JW, Konkle B, Mohler ER, Reilly MP, Berger JS. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8: 148–56.

²³ Zare Mirzaie A., Abolhasani M., Ahmadineja B., Panahi M. Platelet count and MPV, routinely measured but ignored parameters used in conjunction with the diagnosis of acute coronary syndrome: single study center in Iranian population, 2010. *Medical Journal of Islamic Republic of Iran* 2012; 26:17-21.