

ESTUDIOS DE FUNCION PLAQUETARIA EN DIABETICOS ADULTOS EN TRATAMIENTO (1)

Alberto Barrantes (2,4), Orlando Gei (3), German Sáenz (4), Jorge Fonseca (5), Karl Schosinski (4)

RESUMEN

Se hace un estudio de 52 pacientes diabéticos adultos en tratamiento, donde se analizan la adhesividad y la agregación plaquetaria. Se observó un aumento en la adhesividad con un promedio de 38,4 por ciento sobre 19 por ciento de los normales ($p < 0,001$). No se evidenciaron diferencias en los grupos étnicos ni entre los pacientes con tratamiento insulínico o con hipoglicemiantes orales ($p > 0,1$). Para ambos sexos, se encontró promedios significativamente altos con respecto al normal ($p < 0,001$), pero con diferencia significativa entre hombres y mujeres ($p < 0,05$), con un promedio mayor en el hombre (41 por ciento y 35,3 por ciento en la mujer). Usando diversas concentraciones de ADP se demostró una sensibilidad aumentada de las plaquetas al mismo, pues 35 pacientes dieron segunda onda de agregación con una concentración de ADP de $1,3 \times 10^{-6}M$ o menor. Analizando los pacientes en cuanto a tipo de tratamiento, edad y sexo, no se encontró diferencia significativa. De los 10 pacientes con más de 10 años de evolución de su diabetes, 9 mostraron una sensibilidad mayor al ADP. De los 36 pacientes con microangiopatía, 25 mostraron una sensibilidad aumentada al ADP, al igual que 10 de los 16 pacientes sin microangiopatía. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1985; 6(4):213-219].

INTRODUCCION

La enfermedad vascular en la diabetes mellitus es un hecho bien reconocido, siendo la trombosis de los grandes y pequeños vasos accidentes comunes del desorden metabólico. La arterioesclerosis generalizada en diabéticos posee una evolución y un grado más agresivos que en individuos normales. Por otra parte, una forma relativamente específica de enfermedad microvascular, procede en función de la duración de la diabetes mellitus insulino-dependiente (5).

Aunque no se puede afirmar que una simple anomalía sea la responsable de las complicaciones trombóticas en la diabetes, las teorías acerca de la patogénesis de la arterioesclerosis le dan un papel muy importante a las plaquetas en los estadios iniciales del proceso anómalo (19), aceptándose con menos evidencia experimental- que inciden en el desarrollo de la enfermedad microvascular obliterativa. El daño endotelial es seguido por adhesión de las plaquetas al endotelio alterado, y por agregación plaquetaria local, para formarse en la última instancia el trombo blanco. Se produce liberación de factores y se lleva a cabo una agregación irreversible. Este trombo crece por la adhesión de las plaquetas del torrente sanguíneo a las previamente agregadas y a su vez la fibrina participa en el crecimiento y desarrollo de un trombo complejo, con formación de capas de fibrina (9). Por otra parte, se ha aceptado que un aumento de la adhesividad plaquetaria y de la sensibilidad a agentes agregantes detectados por técnicas *in vitro*, pueden también ser operativos *in vivo* (5). Si esto fuera así, se podría pensar que este comportamiento anormal *in vitro* de las plaquetas juegue un papel importante en la génesis de las lesiones oclusivas, que suceden en la microcirculación en pacientes diabéticos (21). En el presente estudio, se valoró la función plaquetaria en pacientes diabéticos en tratamiento, relacionándola a su vez con respecto a edad, sexo, tratamiento y años de evolución de la enfermedad.

MATERIALES Y METODOS

Se tomó una muestra, al azar, de 52 pacientes diabéticos adultos del Servicio de Endocrinología del Hospital México, 25 en tratamiento con hipoglicemiantes orales y 3 sólo con dieta. En todos los pacientes se excluyó la ingestión concomitante de otro medicamento que pudiese afectar la función plaquetaria.

Para el estudio de la adhesividad plaquetaria se tomaron 5 ml de sangre a cada paciente, en ayunas de 12 horas, con una jeringa descartable de plástico, que se filtraron inmediatamente a temperatura ambiente y a velocidad constante por medio de una bomba de infusión (Simmelweis, Milán, Italia), a través de una columna de

2- Laboratorio de Hematología Hospital Calderón Guardia.
3- Servicio de Endocrinología Hospital México.
4- Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología Universidad de Costa Rica.
5- Laboratorio de Inmunología Hospital México.
(1) Presentado en el 1º Symposium Iberoamericano sobre aspectos actuales médico-sanitarios de la diabetes y sus implicaciones cardiovasculares, Bilbao, España. 25-29 octubre, 1981

plástico (Adeplat T, Semmelweis, Milán, Italia). Después de descartar el primer mililitro, el segundo fue recolectado en un tubo de plástico con EDTA (sal dipotásica).

El porcentaje de adhesividad es expresado como el porcentaje de reducción del número de plaquetas en el segundo ml de sangre, con respecto al valor inicial de plaquetas. El rango en personas normales es de 3-35 por ciento, con un valor medio de 19, y una desviación estandar de 8. El Adeplat T está basado en la técnica de Hellem (12), cuya única diferencia consiste en el uso de una columna -preparada con una cantidad y tipo definidos de perlas de vidrio- que es capaz de dar una tasa de adhesividad plaquetaria baja en individuos normales, y por tanto permite valorar estados de hiperadhesividad plaquetaria con mayor sensibilidad. La superficie de contacto en estas columnas es de 45 cm² y el tiempo de contacto aproximado de 6 segundos.

Además, se tomó a cada uno de los pacientes una muestra de sangre anticoagulada con una mezcla de ácido cítrico-citrato (6 partes de citrato de sodio 0,1 M y 4 partes de ácido cítrico 0,1M) en una relación 9:1.

El plasma rico en plaquetas (PRP) se preparó centrifugando la sangre por 10 minutos a 900 rpm y ajustando la concentración de plaquetas a 250×10^9 /L con plasma pobre en plaquetas (PPP).

Los estudios de agregación plaquetaria se llevaron a cabo de acuerdo con la técnica de Born y Cross (1), en un agregómetro Chrono Log (Chrono-Log Corp., Havertown, Pa., USA) y

usando las sustancias agregantes en las siguientes concentraciones finales: colágeno (Hormon, Munich, Alemania) 3mcg/ml, ADP (Signa Chemical Co. St.Louis, Mo., USA) $1,3 \times 10^{-5}$ M, $2,6 \times 10^{-6}$ M, $1,3 \times 10^{-6}$ M, $6,5 \times 10^{-7}$ y $3,25 \times 10^{-7}$ M. y bitartrato de L epinefrina (Signa Chemical Co.) $3,3 \times 10^{-6}$ M. Todas las muestras fueron examinadas entre 1 y 2 horas después de obtenido el PRP.

El porcentaje de agregación plaquetaria corresponde a la diferencia de transmitancia entre el plasma sobre en plaquetas y el plasma rico en plaquetas después de 6 minutos de haber añadido la sustancia agregante. La sensibilidad plaquetaria al ADP se consigna como la concentración mínima de ADP capaz de producir segunda onda de agregación. Además se cuantificó el factor VIII:C (20), el fibrinógeno (3) y la glucosa por el método de la O-toluidina.

Los estudios estadísticos se llevaron a cabo de acuerdo con la t de student (22).

El grupo control consistió de 20 personas normales, cuyas muestras se tomaron en idénticas condiciones que a los pacientes en estudio.

RESULTADOS

Los promedios de adhesividad plaquetaria, factor VIII:C, fibrinógeno y glucosa se presentan en el Cuadro 1. Únicamente 2 pacientes presentaron un porcentaje de adhesividad inferior al promedio de lo normal. El resto (50 pacientes) tuvo resultados iguales o superiores al promedio

CUADRO 1
PROMEDIOS (X) DESVIACION ESTANDAR (D.E /) DE LA ADHESIVIDAD
PLAQUETARIA, EL FACTOR VIII, EL FIBRINOGENO Y LA
GLICEMIA EN LOS 52 PACIENTES DIABETICOS
Y EN LOS 20 CONTROLES NORMALES

	Adhesividad porcentaje	Factor VIII:C U/ml	Fibrinógeno g / L	Glucosa mg / dl
Diabéticos				
X	38,4	1,35	3,10	167
D.E.	16	0,4	0,7	84
CV.	41,7	29,6	22,6	50,3
Controles Normales				
X	19	1,0	2,6	90
D.E.	9	0,25	0,64	10
C.V.	47,4	25	24,6	11,1
p	<0,001	<0,001	<0,02	<0,001

Por otra parte, 26 pacientes mostraron un porcentaje de adhesividad sobre el valor normal superior.

Los pacientes diabéticos de sexo masculino dieron un promedio de adhesividad de 41 por ciento en comparación con los del sexo femenino de 35,3 por ciento, existiendo diferencias significativas entre sexos a nivel de $p < 0,05$.

Distribuidos los resultados de acuerdo con el tipo de tratamiento, se encontró que no hubo diferencias significativas ($p > 0,1$) entre los pacientes en tratamiento con insulina (40,4%) y aquellos en tratamiento de hipoglicemiantes orales (37,3%).

Se notó un promedio menor dentro de los pacientes sometidos únicamente a dieta (31,3%) pero el número de pacientes fue muy bajo para poder obtener conclusiones valederas.

Analizados resultados de acuerdo a presencia o ausencia de microangiopatía se encontró un promedio mayor (39,1%) en los diabéticos con microangiopatía en relación a los que no la presentaban (36,1%), sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,1$).

En el Cuadro 2 se presentan los promedios del porcentaje de adhesividad distribuidos según la edad, sin encontrarse diferencias significativas.

En el Cuadro 3 se presenta el porcentaje de adhesividad de los 52 pacientes, distribuidos en grupos arbitrarios según el tiempo de evolución de la enfermedad. Las concentraciones sanguíneas de glucosa no correlacionaron con los porcentajes de adhesividad, observándose de paso un aumento de la glucemia asociado con aumento en el tiempo de evolución de la enfermedad.

Por otra parte, los porcentajes de agregación

plaquetaria con colágeno (3mcg/ml), ADP ($1,3 \times 10^{-5}$ M y $2,6 \times 10^{-6}$ M) y epinefrina ($3,3 \times 10^{-6}$ M) fueron normales. Cuando se usaron concentraciones menores de ADP se encontró que 35 pacientes de los 32 tienen una sensibilidad plaquetaria aumentada al ADP, en relación con los controles normales.

Los Cuadros 4,5,6, y 7 muestran la distribución de los pacientes de acuerdo con su sensibilidad plaquetaria al ADP con respecto al tipo de tratamiento, presencia o no de microangiopatía, años de evolución de la enfermedad y edad, respectivamente.

El cuadro 8 muestra la distribución de acuerdo a la sensibilidad plaquetaria al ADP con respecto a adhesividad plaquetaria, factor VIII y glucosa.

CUADRO 2

PROMEDIO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA EN LOS 52 PACIENTES DIABETICOS DISTRIBUIDOS SEGUN GRUPOS ETARIOS

Edad Años	Número de Pacientes	Adhesividad Porcentaje
31 - 40	8	40,5
41 - 50	9	37,6
51 - 60	16	38,3
61 - 70	13	37,3
71 - 80	6	35,1

CUADRO 3

PROMEDIO DE ADHESIVIDAD PLAQUETARIA Y DE GLICEMIA EN LOS 52 PACIENTES DIABETICOS DISTRIBUIDOS SEGUN LOS AÑOS DE EVOLUCION DE LA ENFERMEDAD

	AÑOS DE EVOLUCION				
	0-1	2-5	6-10	11-15	16
Adhesividad porcentaje	38,8	37,9	38,8	34,6	39,3
Glucosa mg/dl	94	157	171	265	178
Número pacientes	15	1	10	8	3

CUADRO 4

**DISTRIBUCION DE LOS 52 PACIENTES DIABETICOS DE
ACUERDO CON LA SENSIBILIDAD PLAQUETARIA
AL ADP Y CON EL TIPO DE TRATAMIENTO**

TRATAMIENTO	CONCENTRACION MINIMA DE ADP QUE PRODUCE SEGUNDA ONDA DE AGREGACION PLAQUETARIA				
	1,3x10 ⁻⁵ M	2,6x10 ⁻⁶ M	1,3x10 ⁻⁶ M	6,5x10 ⁻⁷ M	3,2x10 ⁻⁷ M
Insulina	4	3	14	3	1
Hipoglicemiantes orales	4	5	7	8	-
Dieta	1	-	2	-	-
Totales	9	8	23	11	1

CUADRO 5

**DISTRIBUCION DE LOS 52 PACIENTES DIABETICOS DE ACUERDO CON LA
SENSIBILIDAD PLAQUETARIA AL ADP Y PRESENCIA O NO DE MICROANGIOPATIA**

MICROANGIOPATIA	CONCENTRACION MINIMA DE ADP QUE PRODUCE SEGUNDA ONDA DE AGREGACION PLAQUETARIA				
	1,3x10 ⁻⁵ M	2,6x10 ⁻⁶ M	1,3x10 ⁻⁶ M	6,5x10 ⁻⁷ M	3,2x10 ⁻⁷ M
Presente	5	6	16	8	1
Ausente	4	2	7	3	-
Totales	9	8	23	11	1

CUADRO 6

**DISTRIBUCION DE LOS 52 PACIENTES DIABETICOS DE ACUERDO CON LA
SENSIBILIDAD PLAQUETARIA AL ADP Y AÑOS DE EVOLUCION DE LA ENFERMEDAD**

EVOLUCION AÑOS	CONCENTRACION MINIMA EN ADP QUE PRODUCE SEGUNDA ONDA DE AGREGACION PLAQUETARIA				
	1,3x10 ⁻⁵ M	2,6x10 ⁻⁶ M	1,3x10 ⁻⁶ M	6,5x10 ⁻⁷ M	3,2x10 ⁻⁷ M
0- 1	2	3	7	3	-
2- 5	3	2	7	3	1
6- 10	4	2	3	1	-
11- 15	-	1	4	3	-
16	-	-	2	1	-
Totales	9	8	23	11	1

CUADRO 7

DISTRIBUCION DE LOS 52 PACIENTES DIABETICOS DE ACUERDO CON LA SENSIBILIDAD AL ADP Y LA EDAD

EDAD	CONCENTRACION MINIMA DE ADP QUE PRODUCE SEGUNDA ONDA DE AGREGACION PLAQUETARIA				
	1,3x10 ⁻⁵ M	2,6x10 ⁻⁶ M	1,3x10 ⁻⁶ M	6,5x10 ⁻⁷ M	3,2x10 ⁻⁷ M
31 - 40	3	–	4	1	–
41 - 50	2	3	3	–	1
51 - 60	1	3	8	4	–
61 - 70	1	2	6	4	–
71 - 80	2	–	2	2	–
Totales	9	8	23	11	1

CUADRO 8

PROMEDIOS DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA, LA CONCENTRACION DE FACTOR VIII Y LA GLICEMIA CON RESPECTO A LA SENSIBILIDAD PLAQUETARIA AL ADP EN LOS 52 PACIENTES DIABETICOS

	CONCENTRACION MINIMA DE ADP QUE PRODUCE SEGUNDA ONDA DE AGREGACION PLAQUETARIA				
	1,3x10 ⁻⁵ M	2,6x10 ⁻⁶ M	1,3x10 ⁻⁶ M	6,5x10 ⁻⁷ M	3,2x10 ⁻⁷ M
Adhesividad porcentaje	34	42	40	35	23
Factor VIII U/ml	1,23	1,37	1,34	1,46	0,93
Glucosa mg/dl	154	133	82	170	74

DISCUSION

Los resultados de esta investigación indican un compromiso inicial del sistema hemostático en la diabetes, pues 26 de 52 pacientes presentaron adhesividad plaquetaria por encima de 35 por ciento, que es el límite normal superior. Este aumento en la adhesividad fue similar en las diferentes décadas etarias en que se subdividió la población. Por el contrario, hubo una diferencia significativa en los promedios de adhesividad entre hombres y mujeres, con porcentaje alto en ambos sexos, pero significativamente mayor en los primeros ($p < 0,05$). Este dato es de importancia, pues se ha visto que la muerte en pacien-

tes diabéticos por enfermedad coronaria afecta en una forma desproporcionada al sexo masculino (14). En el estudio se demuestra que 18 de los 29 pacientes masculinos presentaban porcentajes de adhesividad superiores al límite normal alto, en contraposición con 9 mujeres de las 18 estudiadas. Estos resultados colocan a los hombres en una situación hemostática crítica al presentar alterado un factor de riesgo importante para el desarrollo de la enfermedad vascular.

Por otra parte, no encontramos diferencias significativas ($p > 0,1$) entre los pacientes con tratamiento con insulina y aquellos con hipoglicemiantes orales, dato opuesto a lo que postulan

Colwell *et al* (5), quienes concluyen que la adhesividad plaquetaria aumentada es más aparente en pacientes que requieren insulina. En nuestros pacientes cuyo único tratamiento era la dieta, se observó un porcentaje de adhesividad inferior a aquellos en tratamiento con insulina o hipoglucemiantes orales; pero debido a que es un grupo muy pequeño no se pueden inferir resultados concluyentes.

Sin embargo, podría vislumbrarse una tendencia a mayor adhesividad plaquetaria cuanto más severa es la diabetes y requiere un tratamiento más energético. Cuando se relacionó el tiempo de evolución de la enfermedad con los porcentajes de adhesividad, no se encontró relación alguna, pues no hubo diferencia entre los distintos grupos de evolución en los cuales se dividió arbitrariamente el grupo de pacientes en estudio.

El análisis de la adhesividad con respecto a la presencia o ausencia de microangiografía, no demostró diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes.

La adhesividad aumentada en la diabetes probablemente sea debida a muchos factores (5), pero indudablemente debe estar relacionada con las actividades asociadas al factor VIII (7) así como a niveles elevados de fibrinógeno (16).

A su vez, el presente ha demostrado una sensibilidad aumentada de las plaquetas al ADP, pues en 35 pacientes se obtuvo una segunda onda de agregación con una concentración de ADP de $1,3 \times 10^{-6}M$ o menor. Este aumento de sensibilidad a ciertas sustancias agregantes se ha reportado también usando epinefrina (18,21).

Analizando los pacientes en cuanto a tipo de tratamiento se refiere, no hubo diferencia significativa en cuanto a este tipo de sensibilidad, puesto que 18 de los 25 pacientes en tratamiento con insulina mostraron una segunda onda de agregación con ADP $1,3 \times 10^{-6}M$ o inclusive a menor concentración, así como 15 de los 24 pacientes en tratamiento con hipoglucemiantes orales.

No se demostró diferencia significativa de sensibilidad al ADP entre los pacientes con microangiopatía y aquellos sin la misma, tal como lo encontraron Colwell *et al* (8).

De los 10 pacientes que tenían más de 10 años de evolución de su diabetes, 9 mostraron una sensibilidad mayor al ADP. La separación en cuanto a un sexo no reveló diferencias en sensibilidad al ADP, tal como lo encontraron Burrows *et al* (2). De los 35 pacientes con más de 50 años de edad 26 tenían hipersensibilidad aumentada al ADP, a diferencia de

9 de los 17 pacientes que tenían una edad inferior. Kwaan *et al* (15) reportaron un factor plasmático que acentuaba la agregación plaquetaria inducida por ADP en plaquetas normales, aunque su acción es independiente del ADP. Lo denominaron factor estimulante de la agregación plaquetaria (FEAP). La presencia de dicho factor fue confirmada posteriormente por Colwell *et al* (4).

Por otra parte, Colwell *et al* (7) sugieren que en las plaquetas del paciente diabético hay una síntesis aumentada de tromboxano A_2 , una sustancia lábil responsable de iniciar la reacción de liberación, así como la agregación plaquetaria (23). A su vez Halushka *et al* (11) habían reportado un aumento en la síntesis de material inmunoreactivo similar a la prostaglandina E, que podría reflejar un aumento de actividad de la enzima prostaglandino sintetasa en uno o varios sitios de acción, necesiéndose estudios adicionales para determinar el sitio o los sitios que contribuyen a la actividad aumentada del sistema. Concluyen los últimos autores afirmando que las anomalías en el metabolismo de la glucosa y de la insulina en los diabéticos, puede también servir como una causa de aumento de agregación plaquetaria y de actividad del sistema prostaglandino sintetasa.

A su vez, Colwell *et al* (7) especulan que la aumentada sensibilidad plaquetaria, las interacciones plaqueta-plasma y el aumento de producción de tromboxano, pueden ser factores importantes en el desarrollo de la enfermedad vascular oclusiva en el diabético.

Este aumento de la síntesis de sustancias que facilitan la agregación, unido a disminución en los niveles de prostaciclina (PGI_2) en las arterias de los pacientes diabetes diabéticos -como lo demuestran Johnson *et al* (13) en un estudio preliminar- pueden favorecer en gran medida la evolución de la angiopatía diabética, pues esta sustancia inhibe la agregación plaquetaria aumentando el AMP cíclico en las plaquetas, presumiblemente al estimular la adenil ciclasa (17). Nuestros hallazgos en torno a la adhesividad plaquetaria y a la sensibilidad de las plaquetas al ADP, confirman los resultados obtenidos en otros estudios (2,6,7), evidenciando que la función plaquetaria en la diabetes mellitus del adulto es anormal. Colwell *et al* (8) ofrecen tres postulados para explicar esta anomalía plaquetaria; un factor plasmático que predispone a las plaquetas a comportarse en forma anormal, una enfermedad vascular no reconocida que puede llevar a un comportamiento anormal de

las plaquetas y, que la función plaquetaria pueda estar alterada independientemente de las anormalidades del plasma.

Aun cuando existen observaciones que ayudan a entender el comportamiento alterado de las plaquetas en la diabetes mellitus, se deben tener reservas al momento de interpretar tales hallazgos, pues se ha reconocido que los fenómenos *in vitro* de adhesividad y agregación plaquetaria aumentada, no reflejan necesariamente el comportamiento plaquetario *in vivo*. A su vez, debido a la heterogeneidad de la diabetes, se debe ser cauteloso y no aplicar los resultados encontrados en un grupo de pacientes, a la población diabética general; sin embargo, los cambios en el sistema hemostático se deben tener en cuenta en el abordaje terapéutico para un control completo de la diabetes (10).

AGRADECIMIENTO

Queremos dejar constancia de gratitud al Sr. Roberto Salas, del Laboratorio de Investigación Clínica, por la cooperación que nos prestó en la ejecución del trabajo de laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

1. Born, G.V.R., Cross, M.J.: The aggregation of blood platelets, *J. Physiol.* 1963;168:178-195.
2. Burrows, A.W., Chavin, S.I., Hockaday, T.D.R.: Plasma-thromboglobulin concentrations in diabetes mellitus. *Lancet* 1978; 1:235-237.
3. Claus, A.: Gerinnungsphysiologische schnell metod zur bestimmung des fibrinogens. *Acta Haemat.* 1957; 17:237-246.
4. Colwell, J.A., Chambers, A., Laimins, M.: Inhibition of labile aggregation-stimulating substance (LASS) and platelet aggregation in diabetes mellitus. *Diabetes* 1975; 24:684-687.
5. Colwell, J.A., Halushka, P.V., Sarjit, K.E., Sagel, J.: Platelet function and diabetes mellitus. *Med. Clin. N. A.* 1978; 62:753-766.
6. Colwell, J.A., Halushka, P.V., Sarji, K.E., Sagel, J.: Rationale for antiplatelet agents in diabetic vascular disease. IN *Thrombosis: Animal and Clinical Models* (ed. Day, H.J., Molony, B.A., Nishizawa, E.E., Rynbrandt, R.H.), Plenum Pub. Coop., N.Y., 1978; 81.
7. Colwell, J. A., Nair, R.M.G., Halushka, P.V., Rogers, C., Whetsell, A., Sagel, J. Platelet adhesion and aggregation in diabetes mellitus. *Metabolism* 1979; 28:394-400.
8. Colwell, J.A., Sagel, J., Crook, L., Chambers, A., Laimins, m.: Correlation of platelet aggregation, plasma factor activity and megathrombocytes in diabetic subjects with and without vascular disease. *Metabolism* 1977; 26:279-285.
9. Chandler, A.B.: IN *The Platelet* (Eds. K.M. Brinkhous, R.W. Shermer & M.K. Mostofi). The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1971:116.
10. Gensint, G.F., Abbate, R., Farilla, S., Neri Serneri, G.G.: Changes of platelet function and blood clotting in diabetes mellitus. *Thrombos. Haemostas* (Stuttg). 1979; 42:983-993.
11. Halushka, P.V., Lurie, D., Colwell, J.A.: Increased synthesis of prostaglandin-E-like material by platelets from patients with diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1977; 297:1306-1310.
12. Hellem, A.J.: Platelet adhesiveness in von Willebrand's disease. A study with a new modification of the glass bead filter method. *Scand. J. Haemat.* 1970; 7:374-382.
13. Johnson, M., Harrison, H.E., Raftery, A.T, Elder J.B: Vascular prostacyclin may be reduced in diabetes man. *Lancet* 1979; 1:325.
14. Kessier, I.I.: Mortality experience of diabetic patient. A twenty-six years follow-up study. *Am. J. Med.* 1971; 51:715-724.
15. Kwaan, H.C., Colwell, J.A., Cruz, S., Suwanwela, N., Dobbie, J.G.: Increased platelet aggregation in diabetes mellitus. *J. Lab. Clin. Med.* 1972; 80:236-246.
16. MacMillan, D.E.: Plasma protein changes, blood viscosity and diabetic microangiopathy. *Diabetes* 1976; 25(sup.2): 858-864.
17. Moncada, S., Korb, R., Bunting, S., Vane, J.R.: Prostacyclin is a circulating hormone *Nature* 1978; 273:767-768.
18. O'Malley, B.C., Ward, J. D., Timperley, W.R., Porten, N.R., Preston, F.E.: Platelet abnormalities in diabetic peripheral neuropathy. *Lancet.* 1975; 2:1274-1276.
19. Ross, A., Glomset, J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Eng. J. Med.* 1976; 295:369-376.
20. Ruggeri, Z.M., Capitanio, A.: I tests di laboratorio per lo studio delle anomalie congenite e acquisite della coagulazione. IN: *Alterazioni congenite e acquisite della coagulazione: metodi di studio* (ed., P. M. Mannucci, S. Gorini), Picci Editore, Padova, 1974; 110.
21. Sagel, J., Colwell, J.A., Crook, L., Laimins, M.: Increased platelet aggregation in early diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* 1975; 82:733-738.
22. Smart, J.V.: Elementos de estadística médica. Editorial Marín S.A., Barcelona, 1972:115.
23. Smith, J.B., Ingerman, C., Silver, M.J.: Persistence of thromboxane A_2 -like material and platelet release-inducing activity in plasma. *J. Clin. Invest.* 1976; 58:1119-1122.