

Resistencia al ácido acetilsalicílico y sus repercusiones clínicas

M.C. García Cubero^a, D. Rodríguez Morales^a y B. Burgoa Alcalaya^b

^aMédico de Familia. Área 4 de Atención Primaria. Madrid. España.

^bMédico de Familia. Área 3 de Atención Primaria. Madrid. España.

El término resistencia al ácido acetilsalicílico aparece cada vez más en los estudios clínicos. El objetivo de esta revisión es revisar el origen de este término, conocer sus implicaciones bioquímicas y clínicas, los métodos de laboratorio y las medidas que podemos adoptar para mejorar el cuidado de nuestros pacientes.

Palabras clave: ácido acetilsalicílico, interacciones medicamentosas, agregación plaquetaria.

The term acetilsalicylic acid resistance has been used increasingly in clinical studies. The aim of this study is to review the origin of this term, know its biochemical and clinical implications, and the laboratory methods and measures we can adopt to improve the care of our patients.

Key words: acetilsalicylic acid, drug interactions, platelet aggregation.

INTRODUCCIÓN

El ácido acetilsalicílico (AAS) es el tratamiento antiagregante más empleado en la práctica clínica. Además, es el fármaco más coste-efectivo en la prevención secundaria de enfermedad cardiovascular, pero los fallos en el tratamiento son relativamente frecuentes¹.

Desde hace más de una década se sabe que el tratamiento antiagregante con AAS reduce el riesgo de muerte de origen cardiovascular en torno a un 15-20% y el riesgo de infarto de miocardio (IAM) y de accidente cerebrovascular (ACV) no fatales en alrededor de un 30-35% de pacientes con angina inestable, sospecha de IAM agudo o antecedente de IAM, ACV o episodio isquémico cerebral transitorio².

Su efectividad ha sido bien establecida en ensayos clínicos y metaanálisis con una reducción aproximadamente del 25% de las recurrencias¹.

No obstante, los efectos antitrombóticos del AAS son muy variables, ya que se producen entre un 5 y un 60% de fracasos terapéuticos a la hora de alcanzar un nivel adecuado de inhibición plaquetaria³ y entre el 10 y el 20% de los pacientes tratados puede desarrollar recurrencias de eventos vasculares⁴.

Se define como resistencia al AAS la recurrencia de eventos vasculares en estos pacientes⁵⁻⁷. De forma confusa este término ha sido usado en la literatura para describir un fenómeno tanto bioquímico como clínico. La resistencia al AAS hace referencia a la persistencia de la activación plaquetaria demostrada mediante prueba de función plaquetaria (resistencia al AAS bioquímico) o a la recurrencia de eventos cardiovasculares (resistencia al AAS clínico). El concepto clínico no es específico y puede ser preferible etiquetarlo como fallo clínico al tratamiento⁸. Sanderson et al definen la resistencia al AAS como el fenómeno bioquímico que puede tener consecuencias clínicas¹.

MECANISMO DE ACCIÓN DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

Agregación plaquetaria

El AAS produce una inhibición selectiva de la ciclooxigenasa (COX) que ayuda a catalizar la síntesis de prostaglandinas y desempeña un importante papel en la pared del vaso. Hay 2 tipos de COX: 1 (COX-1) y 2 (COX-2).

La COX-1 se expresa regularmente en las plaquetas maduras y cataliza la síntesis de tromboxano A₂ (Tx-A₂), que favorece la agregación plaquetaria y la vasoconstricción.

El Tx-A₂ es sintetizado y liberado por las plaquetas en respuesta a numerosos estímulos, por ejemplo colágeno, epinefrina, adenosín difosfato y trombina. Además, sus niveles aumentan en situaciones de agregación plaquetaria tales como ángor inestable, IAM y ACV.

Correspondencia:

Correo electrónico: drodriguez.gapm04@salud.madrid.org

Recibido el 20-11-07; aceptado para su publicación el 18-12-07.

Por otro lado, la COX-2 cataliza la síntesis de prostaciclina (PGI₂), un potente inhibidor de la agregación plaquetaria producida en el endotelio celular (fig. 1).

La COX-2 rara vez se encuentra en las plaquetas maduras pero se ha encontrado en las jóvenes durante los periodos de recambio plaquetario rápido.

A diferencia de otros antiinflamatorios no esteroideos (AINE), el AAS inhibe la COX-1 aproximadamente 170 veces más que la 2; por ello el AAS inhibe el Tx-A₂ mucho más que la prostaciclina. El resultado es una inhibición de la activación y la agregación plaquetaria.

Mientras que la COX-1 se puede inhibir con dosis de 30 mg de AAS, para la inactivación de la COX-2 (efecto antiinflamatorio) se necesitan dosis superiores⁹.

Acciones del ácido acetilsalicílico

El AAS se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, alcanzando el pico plasmático a los 30-40 minutos. Aunque la vida media plasmática es de 20 minutos, puede ser tomada una vez al día, ya que se une irreversiblemente a la COX-1.

El AAS logra la inhibición de la COX-1 y ésta permanece inactiva durante el resto de la vida de la plaqueta. De este modo reduce la síntesis de prostaglandinas durante la vida media de las plaquetas (de 8 a 10 días) y, especialmente, la producción de Tx-A₂¹.

Se han propuesto otros mecanismos adicionales del AAS sobre sus efectos clínicos en las enfermedades cardiovasculares, incluyendo la inhibición de la activación plaquetaria mediada por neutrófilos, mecanismos sobre el endotelio y efectos antioxidantes.

FRACASA EL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO: ¿FALLO CLÍNICO O BIOQUÍMICO?

La recurrencia de eventos cardiovasculares no es infrecuente en pacientes a los que se les ha prescrito AAS para prevención secundaria.

Hay varios factores implicados en la recurrencia de dichos eventos como son: el tabaco, las interacciones medicamentosas, la falta de adherencia al tratamiento, las patologías asociadas y la resistencia al AAS.

Este término se emplea no sólo para describir la ausencia del efecto farmacológico esperado sobre las plaquetas, sino también por la no consecución de los resultados clínicos esperados, tales como la recurrencia en los eventos cardiovasculares. La resistencia al AAS quizá se pueda entender mejor como un fenómeno medible, que ocurre en pacientes en tratamiento con AAS, en los que persiste la activación plaquetaria y que puede desarrollar fallos en el tratamiento.

¿Qué factores pueden contribuir a la recurrencia?

La inadecuada adherencia al tratamiento

Hay pacientes que no toman la medicación prescrita. Tarjan et al¹⁰, en un estudio con 75 pacientes enfermos coronarios en tratamiento con AAS, encontraron que el 11% no presentaba adherencia al tratamiento.

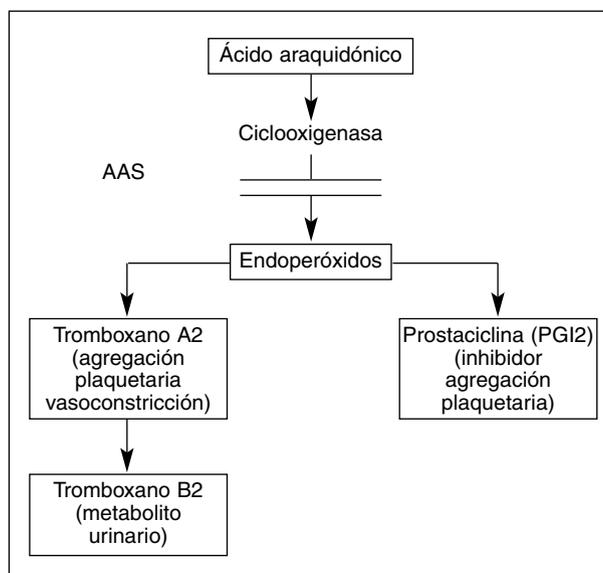


Figura 1. Papel del ácido acetilsalicílico (AAS) en la agregación plaquetaria.

Dosis administrada

Diversos ensayos clínicos sugieren que dosis diarias de AAS de 75 a 150 mg son óptimas para obtener un mejor equilibrio riesgo-beneficio. Otros ensayos clínicos indican que la reducción de eventos cardiovasculares con altas dosis de AAS (de 500 a 1.500 mg/día) pueden no ser mejores que bajas dosis de AAS (de 75 a 150 mg/día)^{2,3,11}. Los efectos adversos inducidos por el AAS son dosis dependientes⁴.

Helgason et al¹² realizaron un estudio de agregación plaquetaria en pacientes con ACV previo y concluyeron que:

1. Un grupo de pacientes que, inicialmente, presentaba una inhibición completa de la agregación plaquetaria perdía parte del efecto antiagregante a lo largo del tiempo, sin cambiar la dosis.

2. Un grupo de pacientes con inhibición parcial conseguía una inhibición completa aumentando la dosis aunque, parte de ellos, posteriormente, la perdía pasado el tiempo.

3. Hay pacientes con resistencia al AAS a pesar de dosis de 1.300 mg diarios.

Comorbilidad asociada

Los pocos estudios que han comparado el efecto en la agregación plaquetaria del AAS en fumadores y no fumadores han encontrado que fumar reduce el efecto antiagregante del AAS^{13,14}.

Fumar, la angina inestable, la hiperlipidemia y la diabetes pueden interferir en el efecto del AAS sobre la activación plaquetaria por un incremento de la producción de isoprostanos (prostaglandina F₂)^{13,15,16}, que inducen vasoconstricción y tienen efectos protrombóticos, aumentan la respuesta de las plaquetas a otros agonistas y además "insensibilizan" la acción del AAS sobre la biosíntesis de tromboxano^{8,17}.

Estudios en fumadores han demostrado que la producción de isoprostanos aumenta con el número de cigarrillos fumados y que 75 mg al día de AAS pueden no tener el efecto deseado en estos pacientes^{14,18}. Este mecanismo podría justificar la recurrencia de eventos vasculares a pesar del empleo de dosis preventivas de AAS.

Otras condiciones, como arteritis o embolismos cardíacos procedentes de prótesis valvulares, afectación cardíaca reumática o endocarditis infecciosa, pueden ser causa independiente de recurrencias en pacientes tratados con AAS¹.

Interacciones medicamentosas

El consumo regular de ciertos AINE como el ibuprofeno y la indometacina parece antagonizar el efecto antiplaquetario del AAS¹⁹⁻²¹.

El ibuprofeno y el naproxeno pueden interferir con dosis bajas de AAS, ya que evitan la acetilación irreversible de la COX-1; este fenómeno no se observa con los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa (coxib) o el diclofenaco, que tiene mayor selectividad por la COX-2²².

¿Qué es la resistencia al AAS?

La resistencia a los fármacos es el resultado de los cambios producidos en virus, microbios o células cancerígenas de forma que reducen o eliminan la efectividad de los agentes empleados para curar o prevenir infecciones o enfermedades²³. También pueden producirse cambios genéticos que afecten a los receptores del fármaco. La exposición al medicamento es generalmente el desencadenante.

La llamada "resistencia" al AAS difiere de la definición clásica de resistencia a un fármaco ya que el cambio no se produce en el receptor, los efectos pueden variar a lo largo del tiempo y son parcialmente reversibles incrementando la dosis¹².

Aunque las plaquetas jóvenes expresan tanto COX-1 como COX-2, las plaquetas maduras expresan sólo COX-1. Mientras la COX-1 es altamente sensible a bajas dosis de AAS, la COX-2 se inhibe sólo con dosis lo suficientemente altas como para proporcionar efectos analgésicos o antiinflamatorios²⁴.

La administración crónica de AAS aumenta la proporción de plaquetas jóvenes, lo que podría explicar los cambios a lo largo del tiempo de la sensibilidad plaquetaria a la inhibición a dosis bajas del fármaco²⁴.

Un pequeño porcentaje de resistencias al AAS podría explicarse por la existencia de un polimorfismo en la expresión de la COX-1 que afecta al receptor, tal como se describe en la definición clásica de resistencia farmacológica, sin embargo, no explicaría los cambios a lo largo del tiempo.

Aunque se ha descrito esta variabilidad genética, tanto el aumento como la disminución de la respuesta al AAS se asocian al mismo haplotipo de COX-1, presente en el 12% de la población^{25,26}.

PRUEBA DE FUNCIÓN PLAQUETARIA

Aunque existen muchas pruebas para valorar la función plaquetaria, se pueden agrupar en aquellas que miden la

agregación y las que miden la activación plaquetaria. En general las primeras cuantifican la agregación en respuesta a agonistas conocidos, mientras que las pruebas de activación miden sustancias en plasma y orina que se liberan al activar las plaquetas (tabla 1).

Pruebas de agregación plaquetaria

Agregómetro de función plaquetaria en plasma (método óptico)

Es una de las pruebas más antiguas; cuantifica la agregación plaquetaria basada en la cantidad de luz transmitida a través de la muestra. Esta prueba es muy laboriosa, dado que requiere un rápido procesamiento de la muestra en las horas siguientes a la extracción.

Medición de la agregación plaquetaria mediante impedancia eléctrica

En esta técnica no se necesita preparar el plasma. Su resultado no se correlaciona con el anterior.

Analizador de la función plaquetaria 100 (PFA-100) o *Veryfy now aspirin assay*

Simula *in vitro* la hemostasia primaria en sangre periférica. La mayoría de los estudios revisados están de acuerdo en que el analizador de la función plaquetaria 100 (PFA-100) es un método simple, real y reproducible para medir la función plaquetaria *in vitro*²⁷⁻³⁴.

Pruebas de activación plaquetaria

La ventaja frente a las pruebas anteriores es que pueden usarse en muestras almacenadas.

Tromboxano-B2 en orina

Es el producto final del ciclo del ácido araquidónico y refleja el nivel de la actividad plaquetaria^{35,36}. Esta prueba es relativamente sencilla y barata y ha sido utilizada en diversos estudios sobre resistencia al AAS. La administración de AAS reduce su excreción urinaria de un 60 a un 80%. Sin embargo, podemos encontrar este metabolito en orina tras la administración de AAS debido a que las plaquetas no son su única fuente. No obstante, es un método fiable.

Eikelboom et al³⁷ apreciaron que el riesgo de IAM, ACV o muerte cardiovascular aumenta a mayor nivel detectado de tromboxano B2 (Tx-B2) en orina. Una limitación a este estudio fue la dificultad para diferenciar si los resultados eran debidos a la falta de cumplimiento terapéutico, al empleo de AINE o a la insensibilidad al AAS.

Tromboxano B2 en suero

La administración de 100 mg de AAS en individuos sanos reduce un 98% la actividad plaquetaria de la COX-1, y a su vez los niveles de Tx-B2³⁸.

Expresión de P-selectina en la membrana plaquetaria

Aumenta con la activación y degranulación plaquetaria. Su medición es cara y compleja³⁹.

Tabla 1. Pruebas de función plaquetaria

Prueba	Método	Ventajas	Inconvenientes
Agregación plaquetaria	Óptico	Ampliamente extendido Buena correlación con los eventos clínicos	No es específico Laborioso
	PFA-100 <i>Verify aspirin assay</i>	Simples Rápidos Se correlacionan con los eventos	Relativamente caros Sensibilidad y especificidad inciertas
Activación plaquetaria	Expresión de selectina	Sus niveles se relacionan con la activación plaquetaria	Sensibilidad y especificidad inciertas Reproducibilidad incierta Correlación con eventos clínicos inciertos Caro Laborioso
	Selectina soluble	Sencillo Se correlaciona con los eventos clínicos Se puede almacenar la muestra mucho tiempo	Sensibilidad y especificidad inciertas Reproducibilidad incierta
	Excreción urinaria de tromboxano	Sencillo Se correlaciona con los eventos clínicos Se puede almacenar la muestra mucho tiempo	Sensibilidad y especificidad inciertas Reproducibilidad incierta

PFA-100: analizador de la función plaquetaria 100.

P-selectina soluble en plasma

Su elevación indica un aumento de la activación plaquetaria⁴⁰. Este método es más sencillo pero relativamente caro.

La utilización de estas pruebas podría emplearse en la práctica diaria para ayudar en nuestra toma de decisiones, pero la relevancia de las diversas pruebas plaquetarias es desconocida. Además, la correlación entre los resultados de las diferentes pruebas de medición son pobres, por lo que no se recomienda emplear ninguna prueba de función plaquetaria para valorar qué individuos van a responder al AAS. La *Seventh American College of Chest Physicians Consensus Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy*, la *European Society Of Cardiology Task Force on Antiplatelets* y el *Platelet Physiology Subcommittee of The Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis* indican unánimemente que, en pacientes individuales, ninguna prueba de función plaquetaria es adecuada para valorar el efecto del AAS²⁴.

CONCLUSIONES

La resistencia al AAS parece ser el resultado de una inhibición incompleta de la función plaquetaria, situación que puede fluctuar a lo largo del tiempo.

Las pruebas para medir la resistencia al AAS y los cambios terapéuticos basados en estas pruebas de laboratorio no se recomiendan debido a la falta de datos sobre la eficacia y la seguridad de esta estrategia.

Desde nuestra consulta, tenemos que hacer hincapié en los factores potencialmente limitantes del efecto antiplaquetario del AAS, como son la falta de adherencia al tratamiento y las interacciones farmacológicas, especialmente con ibuprofeno, naproxeno e indometacina. Estas medidas pueden mejorar la eficacia clínica.

Son necesarios más estudios para establecer cuáles son los métodos que mejor identifican a aquellos pacientes con alto riesgo de desarrollar eventos cardiovascu-

lares a pesar de estar en tratamiento con AAS y estudios para determinar la influencia de la dosis en estas resistencias.

BIBLIOGRAFÍA

- Sanderson S, Emery J, Baglin T, Kinmonth AL. Aspirin resistance and its clinical implications. *Ann Intern Med.* 2005;142:370-80.
- Antiplatelet Trialists' Collaboration. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy - I: Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. *BMJ.* 1994;308:81-106.
- Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ.* 2002;324:71-86.
- Patrono C, Collier B, Dalen JE, FitzGerald GA, Fuster V, Gent M, et al. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects. *Chest.* 2001;119 Suppl:39S-63S.
- Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance [Editorial]. *BMJ.* 2004;328:477-9.
- Smout J, Stansby G. Aspirin resistance. *Br J Surg.* 2002;89:4-5.
- Weber AA, Przytulski B, Schanz A, Hohlfeld T, Schror K. Towards a definition of aspirin resistance: a typological approach. *Platelets.* 2002;13:37-40.
- Patrono C. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *J Thromb Haemost.* 2003;1:1710-3.
- Patrono C, García Rodríguez LA, Landolfi R, Baigent C. Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *N Engl J Med.* 2005;353:2373-83.
- Tarjan J, Salamon A, Jager R, Poor F, Barci V, Dinnyes J, et al. [The rate of acetylsalicylic acid non-respondents among patients hospitalized for acute coronary disease, previously undergoing secondary salicylic acid prophylaxis]. *Orv Hetil.* 1999;140:2339-43.
- Thompson SG, Higgins JP. How should meta-regression analyses be undertaken and interpreted? *Stat Med.* 2002;21:1559-73.
- Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL, et al. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke.* 1994;25:2331-6.
- Cambria-Kiely JA, Gandhi PJ. Possible mechanisms of aspirin resistance. *J Thromb Thrombolysis.* 2002;13:49-56.
- Weber AA, Liesener S, Schanz A, Hohlfeld T, Schror K. Habitual smoking causes an abnormality in platelet thromboxane A2 metabolism and results in an altered susceptibility to aspirin effects. *Platelets.* 2000;11:177-82.

15. Friend M, Vucenik I, Miller M. Research pointers: platelet responsiveness to aspirin in patients with hyperlipidaemia. *BMJ*. 2003;326:82-3.
16. Davi G, Ciabattoni G, Consoli A, Mezzetti A, Falco A, Santarone S, et al. *In vivo* formation of 8-iso-prostaglandin f₂alpha and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation*. 1999;99:224-9.
17. Cipollone F, Ciabattoni G, Patrignani P, Pasquale M, Di Gregorio D, Bucciarelli T, et al. Oxidant stress and aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in severe unstable angina. *Circulation*. 2000;102:1007-13.
18. Hung J, Lam JY, Lacoste L, Letchacovski G. Cigarette smoking acutely increases platelet thrombus formation in patients with coronary artery disease taking aspirin. *Circulation*. 1995;92:2432-6.
19. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, et al. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med*. 2001;345:1809-17.
20. MacDonald TM, Wei L. Effect of ibuprofen on cardioprotective effect of aspirin. *Lancet*. 2003;361:573-4.
21. Kurth T, Glynn RJ, Walker AM, Chan KA, Buring JE, Hennekens CH, et al. Inhibition of clinical benefits of aspirin on first myocardial infarction by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Circulation*. 2003;108:1191-5.
22. Loll PJ, Picot D, Garavito RM. The structural basis of aspirin activity inferred from the crystal structure of inactivated prostaglandin H₂ synthase. *Nat Struct Biol*. 1995;2:637-43.
23. Glossary of Department of Health and Human Services Center for Disease Control and Prevention. Disponible en: <http://www.cdc.gov/drugresistance/glossary.htm>
24. Patrono C, Rocca B. Aspirin resistance-fact or fashion? *Natural Clinical Practice*. 2007;4:42-50.
25. Halushka MK, Walker LP, Halushka PV. Genetic variation in cyclooxygenase 1: effects on response to aspirin. *Clin Pharmacol Ther*. 2003;73:122-30.
26. Maree AO, Curtin RJ, Chubb A, Dolan C, Cox D, O'Brien J, et al. Cyclooxygenase 1 haplotype modulates platelet response to aspirin. *J Thromb Haemost*. 2005;3:2340-5.
27. Carcao MD, Blanchette VS, Dean JA, He L, Kern MA, Stain AM, et al. The Platelet Function Analyzer (PFA-100): a novel *in vitro* system for evaluation of primary haemostasis in children. *Br J Haematol*. 1998;101:70-3.
28. Harrison P, Robinson MSC, Mackie IJ, Joseph J, McDonald SJ, Liesner R, et al. Performance of the platelet function analyzer PFA-100 in testing abnormalities of primary haemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1999;10:25-31.
29. Francis J, Francis D, Larson L, Helms E, García M. Can the Platelet Function Analyzer (PFA-100) test substitute for that template bleeding time in routine clinical practice? *Platelets*. 1999;10:132-6.
30. Kottke-Marchant K, Powers JB, Brooks L, Kundhu S, Christie DJ. The effect of antiplatelet drugs, heparin and preanalytical variables on platelet function detected by the Platelet Function Analyzer (PFA-100). *Clin Appl Thromb Hemost*. 1999;5:122-30.
31. Kundu SK, Heilmann EJ, Sio R, García C, Davidson RM, Ostgaard RA. Description of an *in vitro* Platelet Function Analyzer PFA-100. *Semin Thromb Hemost*. 1995;21 Suppl 2:106-12.
32. Fressinaud E, Veryradier A, Truchaud F, Martin I, Boyer-Neumann C, Trossaert M, et al. Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress: A study of 60 cases. *Blood*. 1998;91:1325-31.
33. Kundu SK, Akkerman J, Christie D, Comp P, Fressinaud E, Greenberg C, et al. Clinical performance of the Platelet Function Analyzer PFA-100. *Blood*. 1996;88:52.
34. Poujol C, Nurden A, Paponneau A, Heilmann E, Nurden P. Ultrastructural analysis of the distribution of von Willebrand factor and fibrinogen in platelet aggregates formed in the PFA-100. *Platelets*. 1998;9:381-9.
35. Perneby C, Granstrom E, Beck O, Fitzgerald D, Harhen B, Hjemdahl P. Optimization of an enzyme immunoassay for 11-dehydrothromboxane B(2) in urine: comparison with GC-MS. *Thromb Res*. 1999;96:427-36.
36. Bruno A, McConnell JP, Mansbach HH 3rd, Cohen SN, Tietjen GE, Bang NU. Aspirin and urinary 11-dehydrothromboxane B(2) in African American stroke patients. *Stroke*. 2002;33:57-60.
37. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation*. 2002;105:1650-5.
38. Capone ML, Tacconelli S, Sciulli MG, Grana M, Ricciotti E, Minuz P, et al. Clinical pharmacology of platelet, monocyte, and vascular cyclooxygenase inhibition by naproxen and low-dose aspirin in healthy subjects. *Circulation*. 2004;109:1468-71.
39. O'Connor CM, Gurbel PA, Serebruany VL. Usefulness of soluble and surface-bound P-selectin in detecting heightened platelet activity in patients with congestive heart failure. *Am J Cardiol*. 1999;83:1345-9.
40. Blann AD, Lip GY. Hypothesis: is soluble P-selectin a new marker of platelet activation? *Atherosclerosis*. 1997;128:135-8.