

DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARINDA TROMBOSİT AKTİVASYONU

Nur OLGUN*, Gülersu İRKEN*, Kamer Mutafoğlu UYSAL*, Adnan AKÇORAL*,
Nurullah AKKOÇ**, Faize AKYOL**, Nurettin ÜNAL*, Faik SARIALIOĞLU*,
Necla T. ÇEVİK, Namık ÇEVİK*

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı*

D.E.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı**

ÖZET

Trombosit aktivasyonu, doğumsal kalp hastalıklarında görülen trombotik olaylar ve kanama eğiliminin altında yatan mekanizmalardan biri olabilir. Bu hipotezi desteklemek amacı ile doğumsal kalp hastalığı olan 47 çocukta, trombosit aktivasyonu flow sitometrik yöntemle, GMP - 140'a karşı geliştirilmiş monoklonal antikor kullanılarak araştırıldı. Siyanotik ve asiyanotik grupta trombosit aktivasyonu, kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulundu (sırası ile $p \leq 0.0005$ ve $p \leq 0.005$). Siyanotik grupta trombosit aktivasyonu, SaO₂ ile direkt bir korelasyon gösterdiği halde ($p \leq 0.001$), asiyanotik grupta böyle bir korelasyon saptanmadı. Her iki grupta trombosit aktivasyonu polisitemi ile ilişkili bulunmadı. Elde edilen sonuçlar doğumsal kalp hastalıklarında trombosit aktivasyonunun meydana geldiğini ve bu hastalarda görülen tromboz ve kanama eğiliminin patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar sözcükler: Trombosit aktivasyonu, doğumsal kalp hastalığı.

SUMMARY

One possible mechanism for the development of thrombotic events and bleeding disorders in congenital heart disease is platelet activation. In support of this hypothesis, we looked for evidence of platelet activation in 47 children with congenital heart disease by flow cytometry using monoclonal antibody directed against GMP - 140. Platelet activation was significantly higher in cyanotic and also in noncyanotic group compared with the control group ($p \leq 0.0005$ and $p \leq 0.005$ respectively). In cyanotic group, platelet activation showed a direct correlation with SaO₂ ($p \leq 0.001$). This correlation was not evident in noncyanotic group. There was no correlation between platelet activation and polycythemia in either groups. Considered together, these results suggest that platelet activation occurs in congenital heart diseases and may have a role in the pathogenesis of thrombosis and bleeding disorders in these patients.

Key words: Platelet activation, congenital heart disease

Siyanotik doğumsal kalp hastalığı ve buna eşlik eden polisitemisi olan hastalarda, intravasküler tromboz ve kanamaya eğilime neden olan bazı hemostatik bozuklukların meydana geldiği bilinmektedir (1). Bu grup hastalarda spontan serebrovasküler olaylar hastalığın en ciddi komplikasyonlarından biridir ve anemi, hipoksemi, polisitemi gibi faktörlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (1,2). Bu çocuklarda, trombotik olayların yanısıra travma veya cerrahi girişimi izleyerek aşırı kanamalarla kendini gösterebilen bir

kanama eğiliminin de olduğu bilinmektedir (3). Yapılan çalışmalarda çeşitli hematolojik anormallikler gösterilmesine rağmen, hemostatik bozukluğun etiyojisi konusunda çelişkili sonuçlar bildirilmektedir (4-6). Daha az oranda dikkati çeken bir diğer nokta, doğumsal asiyanotik kalp hastalığı olan çocuklarda da, klinik olarak hafif semptomlarla seyreden bir kanama eğiliminin görülmesidir (4). Doğumsal kalp hastalıklarında bir yandan intravasküler tromboza, diğer yandan kanamaya eğilim yaratan faktörün

trombosit aktivasyonu olduğu düşünülebilir. Trombosit aktivasyonunun trombozis riskini ve aynı zamanda trombosit işlev bozukluğuna yol açarak kanamaya eğilimi arttırdığına dair bilgiler mevcuttur (7-10).

Bu çalışmada, siyanotik ve asiyanotik doğumsal kalp hastalığı olan çocuklarda hemostatik anormalliğe neden olabileceği düşüncesi ile trombosit aktivasyonu araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubu, Ocak-Temmuz 1994 döneminde D.E.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kardiyoloji Ünitesi'ne başvuran ve klinik, EKG, telekardiyogram, ekokardiyografi ile tanıları belirlenip kardiyak kateterizasyona alınan 13 siyanotik, 34 asiyanotik olmak üzere toplam 47 doğumsal kalp hastalıklı çocuktan oluştu. 17 sağlıklı çocuktan elde edilen veriler, trombosit aktivasyonunun bazal değerlerinin belirlenmesi amacı ile kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu çalışmada trombosit aktivasyonu, trombositlerdeki "Granül membran protein 140" (GMP - 140)'a karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikor kullanılarak flow sitometrik yöntemle değerlendirildi (11-12). Tüm çalışma grubundan kan örnekleri saat 09⁰⁰-10⁰⁰ arasında ön kol venlerinden, turnike uygulanmaksızın, 21 numaralı kelebek set kullanılarak alındı (13,14). İlk 2 ml kan boşaltıldıktan sonra 2,5 ml kan EDTA içeren tüplere boşaltıldı. Trombosit aktivasyonu bu EDTA içeren tam kan örneklerinde çalışıldı ve eş zamanlı olarak aynı kan örneğinde tam

kan sayımı yapıldı. Hastaların hiç birisi trombosit işlev bozukluğuna neden olabilecek ilaç kullanmıyordu. Kardiyak kateterizasyonun trombosit aktivasyonuna neden olabileceği düşüncesi ile tüm çalışmalar kateter öncesi dönemde yapıldı. Tam kan sayımı Coulter, STKS (Coulter Electronics Ltd, Luton, UK) ile yapıldı. Protrombin zamanı (PT) ve parsiyel tromboplastin zamanı (PTT) Biomerieux Option 8 ile standart yöntemlerle saptandı.

FLOW SİTOMETRİK ANALİZ: Tam kan örneğindeki trombositleri belirlemek amacı ile, trombosit membranında bulunan GPIIb için spesifik olan Anti CD42b antijeni (Cymbus, Kod no: CBL 166) kullanıldı. Bu hücre popülasyonundaki aktive trombositler, trombosit aktivasyonunu izleyerek trombosit plazma membranında açığa çıkan GMP - 140 için spesifik Anti CD 62 monoklonal antikor (Cymbus, Kod no: CBL 474) ile belirlendi. Anti CD 62 için negatif izotipik kontrol olarak IgG₁, izotipinde fare monoklonal antikor (Immunotech S.A. Kod no: 0639) kullanıldı. Flow sitometrik inceleme Coulter, Epics Profile II (Coulter Electronics Ltd, Luton, UK) ile yapıldı. Anti CD42b pozitif trombositlerden 10.000 adet analiz edilerek, aktive trombosit oranı saptandı. Bulunan aktive trombosit yüzdeleri, eş zamanlı trombosit sayıları ile çarpılarak mm³'deki aktive trombosit sayısı hesaplandı.

İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME

Veriler, Stat View hazır istatistik programı ile değerlendirildi. (Abacus Concepts,

California) ANOVA, iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi (t testi), korelasyon ve regresyon analizi uygulanarak, $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Siyanotik grup 7 erkek (%53), 6 kız (%47) toplam 13 hastadan oluştu. Bu grubun yaş ortalaması 6 ± 1 (2-17) olarak belirlendi. Siyanotik grupta kardiyak kateterizasyon ile saptanan lezyonlar Fallot tetralojisi (n=12) ve truncus arteriosus (n=1) olarak belirlendi. Bu gruba ait arteriyel O₂ saturasyonu (SaO₂) ortalama 64 ± 1 mmHg (54-72) idi.

Asiyanotik grup 20 kız (%59), 14 erkek (%14) toplam 34 hastadan oluştu. Bu grubun yaş ortalaması 10 ± 1 (2-17) idi. Asiyanotik grupta kardiyak kateterizasyon ile atriyal septal defekt (ASD) 9 hastada, aort stenozu

(AS) 5 hastada, pulmoner stenoz (PS) 4 hastada, patent duktus arteriyozus (PDA) 4 hastada, ventriküler septal defekt (VSD) 4 hastada, atriyoventriküler (AV) septal defekt 3 hastada, aort koarktasyonu (AK) 2 hastada, mitral stenoz (MS) 2 hastada, AS+VSD 1 hastada saptandı. Bu grupta SaO₂ ortalama 96 ± 1 mmHg (76-98) olarak belirlendi.

Kontrol grubu 11 erkek (%65) ve 6 kız (%35) toplam 17 sağlıklı çocuktan oluştu. Bu grubun ortalama yaşı 7 ± 5 (1-14) olarak saptandı.

Her 3 grupta trombosit aktivasyonu çalışılırken eş zamanlı olarak elde edilen hemoglobin, hematokrit, eritrosit sayısı, ortalama eritrosit hacmi (OEH), ortalama eritrosit hemoglobini (OEHb), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (OEHbK), trombosit sayısı, ortalama trombosit hacmi (OTH) değerleri Tablo I'de görülmektedir.

Tablo I. Üç gruba ait tam kan sayımı ve eritrosit indeksleri

	Siyanotik grup n= 13	Asiyanotik grup n= 34	Kontrol grubu n= 17
Eritrosit Sayısı (10 ¹² /L)	5.3-9.7 (7.1±0.4)	4.1-6.9 (4.9±1.1)	4.1-5.6 (4.8±0.1)
Hb (g/dl)	14-24 (18±1)	8-20 (13±0.3)	9-16 (12±0.4)
Hct (%)	43-76 (57±3)	28-64 (40±1)	28 -47 (37±1)
OEH (fl)	65-88 (79±2)	52-92 (80±1)	61 - 88 (76±2)
OEHb (pg)	20-30 (25±1)	18-31 (27±0.5)	19 - 29 (25±1)
OEHbK (g/dl)	30-37 (33±0.5)	31-38 (33±0.2)	31 - 34 (33±0.2)
Trombosit Sayısı (10 ³ /mm ³)	168-305 (236±14)	160-474 (305±14)	323 - 448 (223±16)
OTH (fl)	8-11 (9±0.2)	6-11 (8±0.2)	7 - 10 (8±0.2)

Hastaların tümünde PT, PTT değerleri normal sınırlarda bulundu.

Siyanotik grupta trombosit aktivasyon yüzdesi 12-79 (36±6), aktive trombosit sayısı 23.739-222.040/mm³ (90.987±17.002), asiyanotik grupta trombosit aktivasyon yüzdesi 0.4-31 (10±1) ve aktive trombosit sayısı 764-92.378 / mm³ (30.020 ± 4.223) olarak belirlendi. Kontrol grubunda ise trombosit aktivasyon yüzdesi 0.2-10 (3±1), aktive

trombosit aktivasyon yüzdeleri (15.7 ± 2.897), diğer asiyanotik patolojilerin görüldüğü gruptaki aktivasyon değerlerinden (7.3±1.134) anlamlı olarak yüksekti (t=3.291, p≤0.005).

Siyanotik grupta trombosit aktivasyon yüzdeleri yaş, eritrosit sayısı, hemoglobin, hematokrit, OEH, OEHb, OEHbK, trombosit sayısı ve OTH ile korelasyon göstermedi(p>0.05). Buna karşılık siyanotik grupta SaO₂ ile

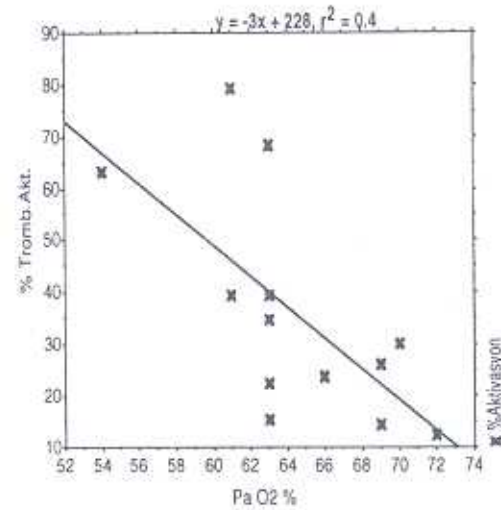
Tablo II. Üç gruba ait trombosit aktivasyon yüzdeleri ve aktive trombosit sayıları

	Siyanotik grup (n=13)	Asiyanotik grup (n=13)	Kontrol grup (n=17)
Trombosit Aktivasyon (%)	12-79 (36±6)	0.4-31 (10±1)	0.2-10 (3±1)
Aktive trombosit sayısı /mm ³	23.739-222.040 (90.987±17.002)	764-92.378 (30.020±4.223)	710-38.316 (10.509±2.752)

trombosit sayısı 710-38-38.316 / mm³ (10.509±2.752) olarak saptandı (Tablo II). Siyanotik grupta trombosit aktivasyon yüzdesi kontrol grubuna ve asiyanotik gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırası ile t= 6.185, p≤0.0005 ve t= 6.333, p≤0.0005). Bu grupta aktive trombosit sayılarının da kontrol grubu ve asiyanotik gruptan anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi (sırası ile t= 5.322, p≤0.005 ve t= 4.915, p≤0.0005).

Asiyanotik grupta ise trombosit aktivasyon yüzdesi ve aktive trombosit sayıları kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırası ile t=3.213, p≤0.005 ve t= 3.095, p≤0.005). Bu gruptaki ASD'li hastalara ait

trombosit aktivasyonu arasında ileri derecede anlamlı korelasyon saptandı (r=-1, p>0.001) (Şekil 1).



Şekil 1. Siyanotik grupta trombosit aktivasyonu - SaO₂ ilişkisi (p<0.001).

Asiyanotik grupta saptanan trombosit aktivasyon yüzdeleri ise yukarıda belirtilen yaş, eritrosit ve trombositlerle ilgili parametrelerle ve SaO₂ ile korelasyon göstermedi ($p>0.05$). Siyanotik grupta SaO₂ asiyanotik gruba göre istatistiksel olarak önemli derecede düşük idi ($t= -22.4, p\leq 0.0005$).

Siyanotik grupta, asiyanotik grup ve kontrol grubu ile karşılaştırılan eritrosit sayısı (sırası ile $t=6.604, p\leq 0.0005$ ve $t= 5.688, p\leq 0.0005$), hemoglobün (sırası ile $t= 6.06, p\leq 0.0005$ ve $t=6.409, p\leq 0.0005$), hematokrit (sırası ile $t= 6.349, p\leq 0.0005$ ve $t= 6.223, p\leq 0.0005$) değerleri anlamlı şekilde yüksek bulundu. OEH, OEHb, OEHbK ise kontrol ve asiyanotik gruptan anlamlı fark göstermedi ($p>0.05$).

Asiyanotik grupta eritrosit sayısı kontrol grubuna göre anlamlı fark göstermezken ($p>0.05$), hemoglobün ve hematokrit değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($t= 2.103, p\leq 0.025$ ve $t= 2.039, p\leq 0.025$) OEH, OEHb, OEHbK asiyanotik grupta da kontrol grubundan farklı bulunmadı ($p>0.05$).

Siyanotik grupta trombosit sayısı kontrol grubuna ve asiyanotik gruba göre anlamlı olarak düşük bulundu (sırası ile $t= 3.917, p\leq 0.0005$ ve $t= -2.836, p\leq 0.005$). Bu 3 gruba ait trombosit sayıları Tablo I'de görülmektedir ve hiç bir hastada trombositopeni saptanmamıştır. Asiyanotik gruba ait trombosit sayılarında kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$), OTH 3 grup ara -

sında anlamlı fark göstermedi ($p>0.05$).

TARTIŞMA

Doğumsal siyanotik kalp hastalığı ve buna eşlik eden polisitemisi olan çocuklarda intravasküler trombozis ve kanamaya eğilim arasında kritik bir denge söz konusudur (1). Bu durum klinikte, bir taraftan serebral trombozların sık görülmesi, diğer taraftan da travma veya cerrahi girişimleri takiben aşırı kanamalarla kendisini gösterebilmektedir (4). Serebrovasküler olayların en sık görüldüğü hasta grubunun Fallot tetralojisi ve büyük arter transpozisyonu olduğu bildirilmektedir (2). Etiyopatogenezde 4 yaş altındaki hastalarda hipoksemi ve OEHbK düşüklüğü ile karakterize relatif anemi, 4 yaş üzerindeki grupta ise hipoksemi ve polisitemi sorumlu tutulmaktadır (2). Ancak siyanotik kalp hastalığı olan çocuklarda yapılan bir çalışmada, serebrovasküler olay saptanan grupta hemoglobün konsantrasyonları ve SaO₂ değerleri serebrovasküler olay görülmeyen gruptaki değerlerden farklı bulunmamıştır (2). Bu nedenle bu grup hastalarda hipoksemi, polisitemi, relatif anemi dışında tromboza eğilim yaratan başka faktörlerin varlığı düşünülebilir.

Siyanotik doğumsal kalp hastalığı olan çocuklarda hemostatik sistem ile ilgili bazı bozukluklar bildirilmiş ve bunların kanamaya eğilimde rol oynayabileceği düşünülmüştür (1,4). Sıklıkla bildirilen hematolojik bozukluklar; trombositopeni, kanama zamanında uzama, trombosit işlev bozukluğu, PT,

PTT ve tromboplastin jenerasyon zamanında uzama, anormal pıhtı retraksiyonu, hipofibrinogenemi, FV, VII, VIII düzeylerinde düşme, akselere fibrinolizis ve fibrin yıkım ürünlerinin saptanmasıdır (4,15). Ancak yapılan çeşitli çalışmalarda, bu hemostatik anomalilere ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (4-6, 15). Asiyantotik doğumsal kalp hastalığı olan çocuklarda da kanamaya eğilim olabilmekte ve genellikle hafif semptomlarla seyretmektedir. Ancak bu grup hastalarda, normal trombosit sayısına rağmen kanama zamanında uzama dışında benzer hemostatik bozukluklar görülmemiştir (4). Çeşitli çalışmalarda ileri sürülen etiyolojik faktörlere rağmen, siyanotik doğumsal kalp hastalıklarında görülen trombozis ve hem siyanotik, hem de asiyantotik grupta görülebilen kanama eğiliminin nedenleri kesin olarak ortaya konamamıştır. Bu çalışma, trombozis ve/veya kanama eğilimine yol açabilecek faktörün trombosit aktivasyonu olabileceği düşüncesinden yola çıkılarak planlanmıştır. Trombosit aktivasyonu serebral trombozis, akut miyokard infarktüsü, pulmoner tromboemboli, kardiyopulmoner bypass, periferik vasküler hastalık, sol ventrikül hipertrofisine neden olan bazı patolojiler gibi çeşitli klinik durumlarda görülmektedir (7,11,16-21). Trombosit aktivasyonunun trombotik hastalıkların patogeneğinde kritik bir rol oynadığı ve trombozisi başlatabildiği düşünülmektedir (7,8). Diğer taraftan aktive trombositlerin dolaşımında uzun süre kalmasının trombosit işlev bozukluğuna neden olabileceği ve aktive trombo-

sitlerin retiküloendotelial sistem tarafından uzaklaştırılmasının trombositopeniye yol açabileceği şeklinde görüşler mevcuttur (8-10).

Bu çalışmada trombosit aktivasyonu siyanotik ve asiyantotik grupta kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p \leq 0.0005$). Aynı şekilde her iki grupta aktive trombosit sayıları da önemli derecede yüksek olarak belirlenmiştir ($p \leq 0.0005$). Önemli bir diğer sonuç, siyanotik grupta trombosit aktivasyon değerlerinin asiyantotik gruba göre de belirgin olarak yüksek bulunmasıdır ($p \leq 0.0005$). Bu bulgu, siyanotik grupta serebral trombozların ve kanamaların daha sık görülmesinde rol oynayan önemli bir faktörün trombosit aktivasyonu olabileceğini düşündürmektedir. Siyanotik doğumsal kalp hastalıklarındaki trombozis ve hemostatik bozukluklardan sorumlu tutulan anemi, polisitemi gibi faktörlerin trombosit aktivasyonu ile ilişkisi araştırıldığında, trombosit aktivasyonunun eritrosit ve trombositler ile ilgili parametrelerle korelasyon göstermediği saptanmıştır. Dolayısıyla trombosit aktivasyonunun polisitemiden bağımsız bir faktör olduğu söylenebilir. Trombosit aktivasyonu siyanotik grupta SO_2 ile ileri derecede anlamlı bir korelasyon gösterirken ($p < 0.001$), aynı ilişkinin trombosit aktivasyon değerlerinin sağlıklı çocuklardan anlamlı olarak yüksek bulunduğu asiyantotik grupta gösterilememiş olması, trombosit aktivasyonunun arteriyel ansatürasyon olmaksızın da meydana gelebileceğini düşün-

dürmektedir.

Trombosit aktivasyonu, siyanotik ve asiyanotik grupta en sık bildirilen hematolojik bozukluk olan "normal trombosit sayısına rağmen trombositlerde kalitatif bir anormallik" durumunu da açıklayabilir. Aktive trombositlerin dolaşımında uzun süre kalmasının trombosit işlev bozukluğuna neden olabileceği bildirilmektedir (8,9).

Yapılan bir çalışmada doğumsal siyanotik kalp hastalığında trombosit yaşam süresinin kısaldığı ve bunun intrensek bir trombosit anormalliğine veya trombositlerin dolaşımında herhangi bir yerde hasarlanmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir (6). Trombosit yaşam süresinde kısalmaya neden olan faktör de trombosit aktivasyonu olabilir.

Bu çalışmada doğumsal kalp hastalığı olan çocuklarda polisitemi ve hipoksinin yanısıra trombosit aktivasyonunun da meydana geldiği gösterilmiştir. Trombosit aktivasyonunun nedeni bilinmemekle birlikte, bu olayı başlatan faktörün hemodinamik bozukluklar olduğu düşünülebilir. Yapılan bir çalışmada akselere ve türbülant akımın trom-

bositleri aktive edebileceği ve bu aktivasyonun da tromboembolik komplikasyon riskini arttırabileceği görüşü ileri sürülmüştür (21). Ancak bununla çelişki gösteren bir sonuç olarak bu çalışmada, akım hızının düşük, türbülansın az olduğu soldan sağa şanlı ASD'li hastalarda trombosit aktivasyon değerleri, diğer asiyanotik kardiyak patolojisi olan hastaların değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p \leq 0.005$). Bu konuda yapılan çalışma sayısının yetersizliği ve olgu sayısının az olması nedeni ile bu bulguyu yeterince açıklamak mümkün olmamıştır.

Siyanotik doğumsal kalp hastalıklarında trombozis ve kanamaya, asiyanotik grupta ise hafif semptomlarla seyreden kanama eğilimine neden olabilecek bir faktör olarak trombosit aktivasyonu düşünülebilir. Ancak bu grup hastalarda daha geniş serilerde ve özellikle klinikte tromboz ya da kanama bulgusu gösteren olgularda trombosit aktivasyonunun duyarlı yöntemlerle çalışılması konuya açıklık getirecektir.

Bu çalışmanın gerçekleşmesindeki katkılarından dolayı Çocuk Sağlığını Koruma Vakfı üyelerine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Behrman RE, Kliegman RM, Nelson WE, Vaughan III VC. Nelson Textbook of Pediatrics. Fourteenth Edition, Philadelphia: W.B. Saunders Company 1992: 1125-7.
2. Phornphutkul C, Rosenthal S, Nadas AS, Berenberg W. Cerebrovascular accidents in infants and children with cyanotic congenital heart disease. The American Journal of Cardiology 1973; (22): 219-24.
3. Ekert H, Sheers M. Preoperative and postoperative platelet function in cyanotic congenital heart disease. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery

- 1974; 67 (2): 184-190
4. Maurer HM, Mc Cue CM, Caul J, Still WJS. Impairment in platelet aggregation in congenital heart disease. *Blood* 1972; 40 (2): 207-16
 5. Henriksson P, Varendh G, Lundström NR. Haemostatic defects in cyanotic congenital heart disease. *British Heart Journal* 1979; 41: 23-7.
 6. Walderman JD, Czapek EE, Paul MH, Schwartz AD, Levin DL, Schindler S. Shortened platelet survival in cyanotic heart disease. *The Journal of Pediatrics* 1975; 87 (1): 77-9.
 7. Wu G, Li F, Li P, et al. Detection of plasma alpha-granule membrane protein GMP-140 using radiolabeled monoclonal antibodies in thrombotic diseases. *Haemostasis* 1993; 23 (2): 121-8.
 8. Nowak Gottl U, Kreuz WD, Krackhardt B, et al. Gerinnungsphysiologische Untersuchungen bei idiopathischen arteriellen thrombosen. *Monatsschr-Kinderheilleid* 1992; 140 (3): 183-7.
 9. Rinder CS, Bohnert J, Rinder HM, et al. Platelet activation and aggregation during cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 1991; 75 (3): 388-93.
 10. Liu TC, Kueh YK, Lee SU. Evidence for circulating activated platelets in septicemic patients with thrombocytopenia. *Blood* 1993; 83 (10): 608.
 11. Wu G, Li F, J, et al. Detection of activated platelets using activation-dependent monoclonal antibody (SZ-51) in clinical disorders. *Nouv Rev Fr Hematol* 1992; 34 (1): 31-5.
 12. Stuart MJ, Dusse J, Clark DA, et al. Differences in thromboxane production between neonatal and adult platelets in response to arachidonic acid and epinephrine. *Pediatr Res* 1984; 18 (9): 823-6.
 13. Ündar L, Türkan C, Korkmaz L. Circadian variation in circulating platelet aggregates. *Ann Med* 1989; 21: 429-33.
 14. Pechan J, Mikulecky M, Okrueka A. Circadian rythm of plasma beta-thomboglobulin in healthy human subjects. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1992; 3: 105-7.
 15. Beardsley DS. Platelet abnormalities in infancy and childhood. In: Nathan dg, oski fa, ed. *hematology of infancy and childhood*. Fourth Edition, Philadelphia: W.B. Saunders Company 1993; 1561-604.
 16. Abrams CS, Ellison N, Budzynski AZ, et al. Direct detection of activated platelets and platelets-derived microparticles in humans. *Blood* 1990; 5: 128-38.
 17. Abrams C, Shattil SJ. Immunological detection of activated platelets in clinical disorders. *Thromb Haemost* 1991; 65: 467-73.
 18. Gasperetti CM, Gronias SL, Gimple LW, Powers ER. Platelet activation during angioplasty in human. *Circulation* 1993; 88: 2728-34.
 19. Rinder CS, Gaal D, Student LA, Smith BR. Platelet-leucocyte activation and modulation of adhesion receptors in pediatric patients with congenital heart disease undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107: 280-8.
 20. Rinder CS, Bonan JL, Rinder HM, Mathews J, Hines R, Smith BR. Cardiopulmonary bypass induces leucocyte-platelet adhesion. *Blood* 1992; 79 (5): 1201-5.
 21. Brandt CM, Lanza F, Gachet C, Hemmendinger S, Cazenave JP. Platelet activation revealed by reduced serotonin content in various left ventricular hypertrophic states. *Acta Cardiologica* 1992; 3: 271-4.