

## Analisi automatizzata dei parametri piastrinici

A. Giacomini<sup>a</sup>, P. Legovini<sup>b</sup>, G. Gessoni<sup>a</sup>  
F. Antico<sup>a</sup>, S. Valverde<sup>a</sup>, M.M. Salvadego<sup>a</sup>, F. Manoni<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Dipartimento di Patologia Clinica, Ospedale di Chioggia, Venezia

<sup>b</sup>Dipartimento di Matematica Pura e Applicata, Università di Padova

**Premesse:** L'Analizzatore Ematologico ADVIA™ 120 propone un nuovo metodo di analisi bidimensionale delle piastrine. Ci siamo proposti di studiare la conta e gli indici piastrinici in soggetti di riferimento per valutare le modificazioni legate al sesso e all'età e per stabilire i relativi valori di riferimento. Abbiamo inoltre confrontato il comportamento di tali parametri fra pazienti affetti da piastrinopenia e da piastrinosi e soggetti di riferimento, di pari sesso ed età.

**Metodi:** Al fine di studiare il comportamento dei parametri piastrinici determinati con l'Analizzatore Ematologico ADVIA™ 120, abbiamo analizzato cinquecento campioni di soggetti di riferimento, uniformemente distribuiti per sesso e per età. Inoltre abbiamo esaminato cento campioni di soggetti con piastrinopenia e cento campioni di soggetti con piastrinosi.

**Risultati:** Nella nostra esperienza i parametri piastrinici presentano differenze significative in base all'età, perciò gli intervalli di riferimento sono stati calcolati separatamente per ciascuna classe di età. Il confronto tra pazienti e soggetti di riferimento ha confermato la già nota relazione inversa tra conta e volume piastrinico e ha permesso di dimostrare che la componente piastrinica media (MPC) non varia significativamente, sia in caso di piastrinopenia, che in caso di piastrinosi.

**Conclusioni:** Il nostro studio dimostra l'esistenza di specifiche modificazioni dei parametri piastrinici legate all'età. Di queste variazioni si deve quindi tenere conto sia nella definizione dei valori di riferimento sia nella futura interpretazione fisiopatologica di tali parametri. Lo studio dei pazienti ha inoltre evidenziato la stabilità del parametro MPC rispetto alla conta piastrinica.

### Introduzione

Grazie alle recenti acquisizioni nel settore della conta automatizzata delle cellule del sangue è oggi possibile ottenere una conta rapida e precisa delle piastrine, così come una determinazione del loro volume. Contemporaneamente possono essere determinati alcuni parametri piastrinici (1) in parte già noti, come il piastrinocrito (PCT) e il volume piastrinico medio (MPV), altri di nuova introduzione, come: la componente media piastrinica (MPC) e la massa media piastrinica (MPM), insieme con le loro ampiezze di distribuzione. In particolare, per la misura dei parametri piastrinici, nei Sistemi Ematologici ADVIA (Bayer Corporation, Tarrytown, NY) è stata sviluppata una versione modificata del sistema di rivelazione della luce laser a doppio angolo per l'analisi dei globuli rossi tipica dei Sistemi Ematologici Bayer H\* (Bayer Corporation, Tarrytown, NY). Una coppia di segnali dovuti alla diffusione della luce, determinata per ciascuna particella, è convertita in base alla teoria di Mie in una corrispondente coppia di valori, riferiti al volume cellulare e all'indice

di rifrazione. In questo modo le piastrine possono essere distinte dai globuli rossi e da altre particelle che possono interferire con la conta.

L'indice di rifrazione della piastrina, correlato linearmente alla densità della stessa, cioè alla concentrazione globale dei componenti al suo interno, è espresso come componente piastrinica e rappresenta un indice del suo stato di attivazione (2). Dall'istogramma di frequenza della componente piastrinica viene quindi ricavato il parametro MPC.

Contemporaneamente viene fatta la conta piastrinica e viene determinato il volume piastrinico di cui è costruito l'istogramma di frequenza. Dall'elaborazione dei due parametri, volume e densità, viene ottenuto l'MPM ed il relativo istogramma.

La natura delle piastrine fa di loro un sensibile indicatore di patologia *in vivo*, ma esse possono essere tecnicamente difficili da analizzare *in vitro* a causa dei loro rapidi cambiamenti di dimensione, forma e contenuto. Recentemente è stato dimostrato che l'analisi bidimensionale delle piastrine costituisce uno strumento affidabile per ottenere una conta precisa delle piastrine (3) e una più accurata discriminazio-

ne fra piastrine di tutte le misure e altre particelle circolanti (4). Inoltre l'MPC è stato indicato come un test di screening potenzialmente utile per studiare il processo di attivazione piastrinica ed è quindi applicabile nel monitoraggio di pazienti a rischio di trombosi o emorragia (5).

Poiché il Sistema Ematologico ADVIA™ 120 è relativamente nuovo, poco si conosce circa i valori di riferimento dei suoi nuovi parametri piastrinici e delle applicazioni di tali parametri nello studio delle alterazioni piastriniche in corso di patologia (6). Scopo del presente studio è quindi quello di investigare, in soggetti di riferimento, il comportamento dei parametri piastrinici, determinati con il Sistema Ematologico ADVIA™ 120 e di definire i valori di riferimento da utilizzare nella pratica clinica per tali parametri. Ci proponiamo inoltre di studiare il comportamento dei parametri piastrinici nell'ambito del confronto di due gruppi di pazienti, affetti rispettivamente da piastrinopenia e piastrinosi, con due corrispondenti gruppi di controllo costituiti da soggetti sani di pari età e sesso.

## Materiali e metodi

Cinquecento campioni di sangue prelevati, previo consenso informato, a soggetti di riferimento sono stati sottoposti ad esame emocromocitometrico completo con determinazione della conta e degli indici piastrinici sull'Analizzatore Ematologico ADVIA™ 120. Il gruppo di soggetti di riferimento consisteva in duecentocinquanta maschi e duecentocinquanta femmine, di età compresa fra i 10 e gli 85 anni (età media 54 anni). I soggetti fra 18 e 65 anni erano donatori di sangue afferenti presso il Centro Trasfusionale del Dipartimento di Patologia Clinica; tutti gli altri soggetti sono stati selezionati in accordo con le linee guida del National Committee for Clinical Laboratory Standards H20-T (7). I soggetti di riferimento sono stati divisi in 10 gruppi in base al sesso e all'età. Le classi di età sono state stabilite per intervalli relativi a specifici periodi della vita caratterizzati dalle maggiori variazioni fisiologiche: 1-10 anni, 10-18 anni, 18-45 anni, 45-65 anni, oltre 65 anni. Ciascuna classe era divisa in due gruppi: 50 maschi e 50 femmine. Sono stati inoltre sottoposti ad esame emocromocitometrico completo con determinazione della conta e degli indici piastrinici duecento campioni di sangue prelevati, previo consenso informato, a pazienti ospedalizzati così suddivisi: cento soggetti affetti da piastrinopenia periferica (conta piastrinica inferiore a 100.000/ $\mu$ L) e cento soggetti affetti da piastrinosi secondaria (conta piastrinica superiore a 500.000/ $\mu$ L). Ciascun gruppo era costituito da 50 maschi e 50 femmine di età compresa, per il primo gruppo, fra 25 e 85 anni e per il secondo gruppo fra 18 e 87 anni.

I campioni di sangue sono stati raccolti, evitando la stasi venosa prolungata, entro provette Venoject Terumo da 4.5 mL contenenti come anticoagulante K<sub>3</sub>EDTA e sono state processati entro un'ora dal prelievo per minimizzare le variazioni legate alla conservazione. Tutti i campioni sono stati sottoposti alla determinazione dei seguenti parametri piastrinici: conta piastrinica (PLT), volume piastrinico medio (MPV), ampiezza di distribuzione del volume piastrinico (PDW), piastrinocrito (PCT), componente media piastrinica (MPC), ampiezza di distribuzione della componente piastrinica (PCDW), massa secca media piastrinica (MPM), ampiezza di distribuzione della massa secca piastrinica (PMDW). Per la descrizione tecnica della analisi bidimensionale delle piastrine e del metodo di determinazione dei parametri piastrinici vedi Kunicka et al. (8).

## Statistica

La statistica W di Shapiro-Wilks è stata impiegata per verificare l'ipotesi di normalità sui campioni al fine di selezionare il tipo di test più opportuno per confrontare fra loro i parametri piastrinici.

Le differenze dovute all'età e al sesso e le differenze fra pazienti e soggetti di riferimento sono state rilevate utilizzando il test di Wilcoxon-Mann-Whitney.

I calcoli statistici sono stati eseguiti con SAS System® v6.12 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), gli strumenti di analisi Excel97® (Microsoft, Redmond, CA, USA) e l'Excel add-in Morefun.xll v2.61 (L. Longre, OSR Rhône-Alpes, F).

## Risultati

Poiché solo per due parametri, PDW e PCDW, l'ipotesi di normalità non poteva essere rigettata, sono stati adottati esclusivamente test non parametrici, così come sono stati adottati i percentili per costruire i valori di riferimento.

Il confronto fra sessi nell'ambito di ciascuna classe di età è stato eseguito col test di Wilcoxon-Mann-Whitney. Soltanto nella classe da 45 a 65 anni è stata trovata una differenza significativa in base al sesso: le donne presentavano valori significativamente ( $p < 0.01$ ) più elevati di PLT e PCT e significativamente ( $p < 0.01$ ) più bassi di MPC rispetto ai maschi. Un'analisi globale mediante test di Kruskal-Wallis ha indicato la presenza di differenze significative legate all'età. I test *post hoc* tra ciascuna classe d'età e la successiva hanno mostrato nelle prime tre classi differenze significative ( $p < 0.001$ ) per tutti i parametri piastrinici, con la sola eccezione del PCDW. Per quanto riguarda poi il confronto fra la classe d'età da 45 a 65 anni e le classi di età precedente e successiva, si è tenuto conto della differenza per sesso pre-

**Tabella I.** Confronto dei parametri piastrinici tra classi di età successive: valori di significatività (p) determinati mediante test di Wilcoxon-Mann-Whitney. I confronti con la classe di età da 45 a 65 anni sono stati valutati separatamente per maschi (M) e femmine (F).

Confronto (classi di età)	PLT (10 <sup>3</sup> /μL)	MPV (fL)	PDW (%)	PCT (%)	MPC (g/dL)	PCDW (g/dL)	MPM (pg)	PMDW (pg)
1-10 vs 10-18	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	ns	p < 0.001	p < 0.001
10-18 vs 18-45	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	ns	p < 0.001	p < 0.001
18-45 vs 45-65 (M)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	p < 0.001	ns
18-45 vs 45-65 (F)	ns	ns	ns	ns	p < 0.001	ns	p < 0.001	ns
45-65 vs >65 (M)	ns	ns	ns	ns	p < 0.001	ns	p < 0.001	ns
45-65 vs >65 (F)	ns	ns	ns	ns	p < 0.001	ns	p < 0.001	ns

**Tabella II.** Valori di riferimento per gli indici piastrinici. Per la classe di età da 45 a 65 anni i valori di riferimento sono separati per maschi (M) e femmine (F).

Classe di età (anni)	PLT (10 <sup>3</sup> /μL)	MPV (fL)	PDW (%)	PCT (%)	MPC (g/dL)	PCDW (g/dL)	MPM (pg)	PMDW (pg)
1-10	220 - 422	8.3 - 10.9	30.5 - 48.8	0.19 - 0.41	17.1 - 24.1	4.2 - 5.7	1.7 - 2.2	0.6 - 0.9
10-18	165 - 396	8.6 - 12.1	30.9 - 54.7	0.16 - 0.39	18.9 - 24.6	4.2 - 5.5	1.8 - 2.4	0.6 - 1.0
18-45	159 - 376	8.5 - 12.8	35.6 - 56.1	0.17 - 0.38	20.2 - 25.0	4.4 - 5.5	1.9 - 2.6	0.7 - 1.1
45-65 (M)	156 - 300	8.6 - 12.0	37.6 - 55.1	0.15 - 0.30	20.8 - 25.1	4.3 - 5.6	1.8 - 2.7	0.7 - 1.0
45-65 (F)	156 - 351	9.0 - 12.9	36.6 - 56.4	0.17 - 0.34	18.6 - 24.5	4.3 - 5.5	1.8 - 2.6	0.7 - 1.1
>65	139 - 363	8.8 - 12.4	36.4 - 55.5	0.15 - 0.35	17.8 - 23.5	4.1 - 5.6	1.8 - 2.4	0.7 - 1.0

cedentemente rilevata, per cui tali confronti sono stati eseguiti separatamente per sesso.

Questi confronti hanno individuato differenze significative solo per i parametri MPC e MPM; in particolare il parametro MPC risulta significativamente più basso nell'anziano oltre i 65 anni, rispetto ai soggetti di 45-65 anni (p<0.001), per entrambi i sessi. Per quanto riguarda i parametri di distribuzione piastrinica il PCDW non presenta differenze significative in base al sesso e all'età, mentre PDW e PMDW presentano differenze significative nelle prime tre classi di età.

I nostri risultati dimostrano come i parametri piastrinici si modificano con l'età: PLT e PCT diminuiscono da 1-10 anni a 18-45 anni e successivamente sono stabili, mentre l'MPV aumenta da 1-10 anni a 18-45 anni, e resta stabile successivamente. MPC e MPM aumentano da 1-10 anni a 18-45 anni e diminuiscono successivamente. La Tabella I riassume i risultati del confronto tra classi di età successive.

Abbiamo quindi stabilito come valori di riferimento, con limite di confidenza del 95%, i valori compresi fra il 2.5-esimo e il 97.5-esimo percentile. Essi sono stati stabiliti per ciascuna classe di età mettendo insieme maschi e femmine, ad eccezione della classe 45-65 anni, per cui si sono stabiliti valori di riferimento separati per i due sessi (Tab. II).

Sia nei pazienti trombocitopenici, che in quelli con trombocitosi, il test di Wilcoxon-Mann-Whitney non ha evidenziato alcuna differenza significativa nei parametri piastrinici in base al sesso. Il confronto dei dati relativi ai pazienti trombocitopenici con quelli di un gruppo di soggetti di riferimento di

pari età e sesso ha dimostrato differenze significative per tutti i parametri piastrinici ad eccezione di MPC (Tab. III). Come già dimostrato (9) i soggetti trombocitopenici hanno un MPV più elevato dei soggetti di riferimento, mentre la componente media piastrinica non cambia significativamente fra i due gruppi. Per quanto riguarda i casi di trombocitosi si dimostra la presenza di una differenza significativa per la maggior parte dei parametri piastrinici studiati, ad eccezione di MPC e delle ampiezze di distribuzione PDW e PCDW (Tab. IV). In questo caso, come atteso, il volume piastrinico risulta significativamente inferiore a quello dei soggetti di riferimento (9).

## Discussione

Per lungo tempo le piastrine sono state studiate solamente in relazione ai processi di trombosi ed emostasi. Tuttavia negli ultimi anni è stato dimostrato che esse giocano un importante ruolo in parecchie patologie su base vascolare quali la coronaropatia (10-11), la malattia di Alzheimer (12), i disordini mieloproliferativi (13-14), il diabete (15), la pre-eclampsia (16), le malattie infiammatorie intestinali (17) e la malattia glomerulare (18). L'attivazione piastrinica è stata dimostrata nella maggior parte di questi disordini e la terapia anti-piastrinica è stata valutata nella gestione di alcune di queste patologie, come la malattia vascolare diabetica (19), l'ischemia cardiaca e cerebrale (20). Di conseguenza vi è un crescente interesse nello sviluppo di metodi e strumenti per una conta piastrinica sempre più accurata

**Tabella III.** Mediana  $\pm$  intervallo semi-interquartile di due campioni costituiti da soggetti di riferimento (R) e da pazienti con trombocitopenia (t). È inoltre presentato il valore di significatività (p) relativo al confronto dei due campioni mediante test di Wilcoxon-Mann-Whitney.

Campione	PLT ( $10^3/\mu\text{L}$ )	MPV (fL)	PDW (%)	PCT (%)	MPC (g/dL)	PCDW (g/dL)	MPM (pg)	PMDW (pg)
R	235 $\pm$ 38	9.9 $\pm$ 0.5	43.7 $\pm$ 3.3	0.2 $\pm$ 0.04	22.0 $\pm$ 0.8	5.1 $\pm$ 0.2	2.1 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.1
t	64 $\pm$ 22	11.2 $\pm$ 0.8	53.1 $\pm$ 4.7	0.1 $\pm$ 0.02	22.2 $\pm$ 0.8	5.1 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.1
p	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.3098	0.0217	0.0001	0.0001

**Tabella IV.** Mediana  $\pm$  intervallo semi-interquartile di due campioni costituiti da soggetti di riferimento (R) e da pazienti con trombocitosi (T). È inoltre presentato il valore di significatività (p) relativo al confronto dei due campioni mediante test di Wilcoxon-Mann-Whitney.

Campione	PLT ( $10^3/\mu\text{L}$ )	MPV (fL)	PDW (%)	PCT (%)	MPC (g/dL)	PCDW (g/dL)	MPM (pg)	PMDW (pg)
R	236 $\pm$ 36	9.9 $\pm$ 0.6	44.1 $\pm$ 3.3	0.24 $\pm$ 0.04	22.0 $\pm$ 1.0	5.0 $\pm$ 0.3	2.1 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.1
T	665 $\pm$ 73	8.5 $\pm$ 0.8	43.3 $\pm$ 3.9	0.57 $\pm$ 0.12	21.7 $\pm$ 1.0	5.1 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1
p	0.0001	0.0001	0.3265	0.0001	0.0586	0.2147	0.0001	0.0001

e per la determinazione dei parametri piastrinici in queste patologie.

In questo studio abbiamo determinato la conta e i parametri piastrinici per mezzo dell'Analizzatore Ematologico ADVIA™ 120, utilizzando campioni di soggetti di riferimento e di pazienti con conta piastrinica bassa ed elevata. Sono stati valutati campioni raccolti in K<sub>3</sub>EDTA poiché tale anticoagulante, pur comportando delle modificazioni del volume piastrinico, è comunemente in uso per l'esecuzione dell'esame emocromocitometrico, nell'ambito del quale rientra la determinazione del profilo piastrinico. L'analisi bidimensionale della piastrina su ADVIA™ 120 si basa sulla determinazione simultanea del volume e dell'indice di rifrazione di ciascuna piastrina. Questo permette un maggior livello di discriminazione delle piastrine. Oltre ai parametri piastrinici standard, come PLT, PCT, MPV, PDW, che sono disponibili sulla maggior parte degli analizzatori ematologici, il Sistema Ematologico ADVIA™ 120 offre nuovi parametri. Fra questi vi è l'MPC, una misura dell'indice di rifrazione che è correlata allo stato di attivazione piastrinico (21), e l'MPM, un parametro calcolato come prodotto del volume piastrinico per l'indice di rifrazione, in base all'analisi di ogni singola piastrina. Questi nuovi parametri possono essere utili nell'approfondire lo studio della funzionalità piastrinica.

Al fine di utilizzare nella nostra realtà clinica i parametri piastrinici determinati con il Sistema Ematologico ADVIA™ 120, abbiamo determinato in prima istanza tali parametri in soggetti di riferimento. In linea generale i valori di riferimento che abbiamo determinato sono in accordo con la letteratura (6) per PLT e MPM, mentre sono più bassi per MPC e più alti per MPV e PCT; questa differenza potrebbe dipendere dalla diversa casistica studiata.

Solamente nella classe di età di 45-65 anni è stata dimostrata una differenza significativa in base al

nesso per quanto riguarda PLT, PCT e MPC, parametri per cui sono stati definiti valori di riferimento separati per i due sessi. Questo dato risulta in accordo con Brummitt e Barker (6), che hanno dimostrato una conta piastrinica significativamente più elevata nelle donne, anche se, nella nostra esperienza, le differenze sono presenti solo nei soggetti di età tra 45 e 65 anni.

Dal momento che la maggior parte dei parametri piastrinici presentano variazioni significative in base all'età, abbiamo ritenuto opportuno, a differenza degli Autori sopracitati, di definire dei valori di riferimento differenziati per età.

I parametri piastrinici hanno dimostrato di avere specifiche variazioni durante il corso della vita: PLT e PCT diminuiscono dall'infanzia all'età adulta e successivamente sono stabili, mentre MPV dimostra un comportamento opposto. Diversamente, MPC e MPM aumentano dall'infanzia all'età adulta e diminuiscono successivamente.

Inoltre, quando si confrontano gli indici piastrinici fra soggetti di riferimento e soggetti con conta piastrinica patologica, oltre alla già nota differenza significativa del volume piastrinico abbiamo dimostrato come il parametro MPC presenti una sostanziale stabilità rispetto alla conta piastrinica. Sono necessari studi clinici controllati per valutare l'utilità nella pratica clinica dei valori di riferimento proposti nel nostro studio ed il significato fisiopatologico dei nuovi parametri piastrinici. In particolare, dal momento che MPC sembra essere un utile parametro per studiare l'attivazione piastrinica (21) e presentare un comportamento indipendente dalla conta piastrinica, noi suggeriamo di prendere in considerazione la fisiologica modificazione di MPC in base all'età nella pratica clinica e nella possibile correlazione di questo dato con l'aumento di eventi trombotici nel soggetto anziano.

## Bibliografia

1. Chapman ES, Hetherington EJ, Zelmanovic D. A simple automated method for determining ex vivo platelet activation state. *Blood*. 1996;88:2929.
2. Zelmanovic D, Hetherington EJ. Automated analysis of feline platelets in whole blood, including platelet count, mean platelet volume and activation state. *Vet Clin Pathol*. 1998;27:2-9.
3. Dorfman DM, Fitzpatrick PA, Nieves I, Weinberg DS, Wybenga DR. ADVIA™ 120 hematology system: platelet analysis. In: First international Bayer diagnostics Central Laboratory Symposium. Wilton, CT USA: Chase Medical Publishers 1997; p. 29.
4. Fisher G, Zelmanovic D, Shapiro P, Greenbaum A, Kunicka J. Evaluation of the two dimensional platelet method on the ADVIA™ 120 hematology system. In: First international Bayer diagnostics Central Laboratory Symposium; Wilton, CT USA: Chase Medical Publishers 1997; p. 46.
5. Macey MG, Carty E, Morris C, Webb L, Barmby D, Rampton DS, et al. Measurement of Platelet Activation on the ADVIA™ 120 Haematology System. *Br J Haematol*. 1998;101 Suppl 1:89.
6. Brummitt DR, Barker HF. The determination of a reference range for new platelet parameters produced by the Bayer ADVIA™ 120 full blood count analyser. *Clin Lab Haematol*. 2000;22:103-107.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Leukocyte Differential Count (Proportional) and evaluation of Instrumental Methods H20-A. *NCCLS* 1992;12:1-55.
8. Kunicka JE, Fisher G, Zelmanovic D. Improved platelet count accuracy: two dimensional platelet analysis. *Am Clin Lab*. 1998;6:6-7
9. Levin J, Bessman JD. The inverse relation between platelet volume and platelet number. *J Lab Clin Med*. 1983;101:295-307
10. Cahill MR, Macey MG, Newland AC. Platelet surface activation antigen expression at baseline and during elective angioplasty in patients with mild to moderate coronary artery disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996;7:165-8.
11. Knight CH, Panesar M, Wright C, Clarke D, Butowski PS, Patel D et al. Altered platelet function detected by flow cytometry. Effects of coronary artery disease and age. *Arterioscler Thromb Vascul Biol*. 1997;17:2044-53.
12. Davies TA, Long HJ, Tibbles HE, Sgro KR, Wells JM, Rathbun WH et al. Moderate and advanced Alzheimer's patients exhibit platelet activation differences. *Neurobiol Aging*. 1997;18:155-62.
13. Cahill MR, Macey M, Newland AC. Correlation of GP53 and P-selectin expression in myeloproliferative disorders and normal control. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1996; 7:169-71
14. Thibert V, Bellucci S, Cristofari M, Glukman E, Legrand C. Increased platelet CD36 constitutes a common marker in myeloproliferative disorders. *Br J Haematol*. 1995;91:618-24.
15. Tschöepe D, Driess E, Schwippert B, Lampeter EF. Activated platelets in subjects at increased risk of IDDM. *Diabetologia*. 1997;40:573-77.
16. Bleker OP, Boer K, Sturk A. Can flow cytometric detection of platelet activation early in pregnancy predict the occurrence of preeclampsia? A prospective study. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;177:434-42.
17. Collins CE, Cahill MR, Newland AC, Rampton DS. Platelets circulate in an activated state in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1994;106:840-5.
18. Barnes JL. Platelets in glomerular disease. *Nephron*. 1997;77:378-93.
19. ETDRS Investigators. Aspirin effects on mortality and morbidity in patients with diabetes mellitus. Early Treatment diabetic Retinopathy study report. *JAMA*. 1992;268:1291-300.
20. Anti-Platelet Trialists' Collaborative Study. Collaborative overview of randomised trials of anti-platelet therapy I: prevention of death, myocardial infarction and stroke by prolonged anti-platelet therapy in various categories of patients. *Br Med J*. 1994;308:81-106.
21. Macey MG, Carty E, Webb L, Chapman ES, Zelmanovic D, Okrongly D et al. Use of Mean Platelet Component to Measure Platelet Activation on the ADVIA 120 Haematology System. *Cytometry* 1999;38:250-5.

## Ringraziamenti

Si ringrazia il Sig. Alessandro Callegari, Tecnico di Laboratorio Biomedico presso il Dipartimento di Patologia Clinica, Ospedale di Chioggia, per la sua preziosa collaborazione nell'attività analitica.