

Melatoninin Trombosit Agregasyonuna, Trombosit Sekresyon Fonksiyonlarına ve Trombopoze Etkileri

S.Arzu VARDAR¹, Mevlüt YAPRAK², Kadir KAYMAK³

ÖZET

Pineal bezin en önemli ürünü melatoninudur. Bu hormonun en iyi bilinen etkileri bazı canlı türlerinde mevsimsel üreme ve sirkadyen ritimleri düzenlemektir. Literatürdeki az sayıdaki çalışmada, trombositlerde melatonin reseptörleri olduğu ve melatoninin bazı trombosit fonksiyonlarını etkilediği bildirilmektedir. Ayrıca trombositlerde melatonin sentezlendiğini ve melatoninin trombopoze etkilediğini bildiren çalışmalar mevcuttur.

Bu derlemenede melatoninin trombosit agregasyonu ve sekresyon fonksiyonları ile trombopoze etkileri konusundaki bazı çalışmalar değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Melatonin, trombosit, agregasyon, thromboxan B2, diurnal değişiklikler, trombopoiesis

SUMMARY

THE EFFECTS OF MELATONIN ON AGGREGATION, SECRETION FUNCTIONS OF THROMBOCYTES AND THROMBOPOIESIS

Melatonin is the most important product of pineal gland. The best known effects of this hormone is to coordinate seasonal reproductivity and circadian rhythms in some species. A few researches are observed in literature which refers to the fact that there are melatonin receptors on thrombocytes and melatonin affects certain functions of thrombocytes.

According to the some other research melatonin is synthesized in thrombocytes and affects thrombopoiesis in mammals.

We reviewed some publications about the effects of melatonin on thrombocytes aggregation and secretion function with thrombopoiesis.

Keywords: Melatonin, platelets, aggregation, thromboxane B2, diurnal changes, thrombopoiesis,

GİRİŞ

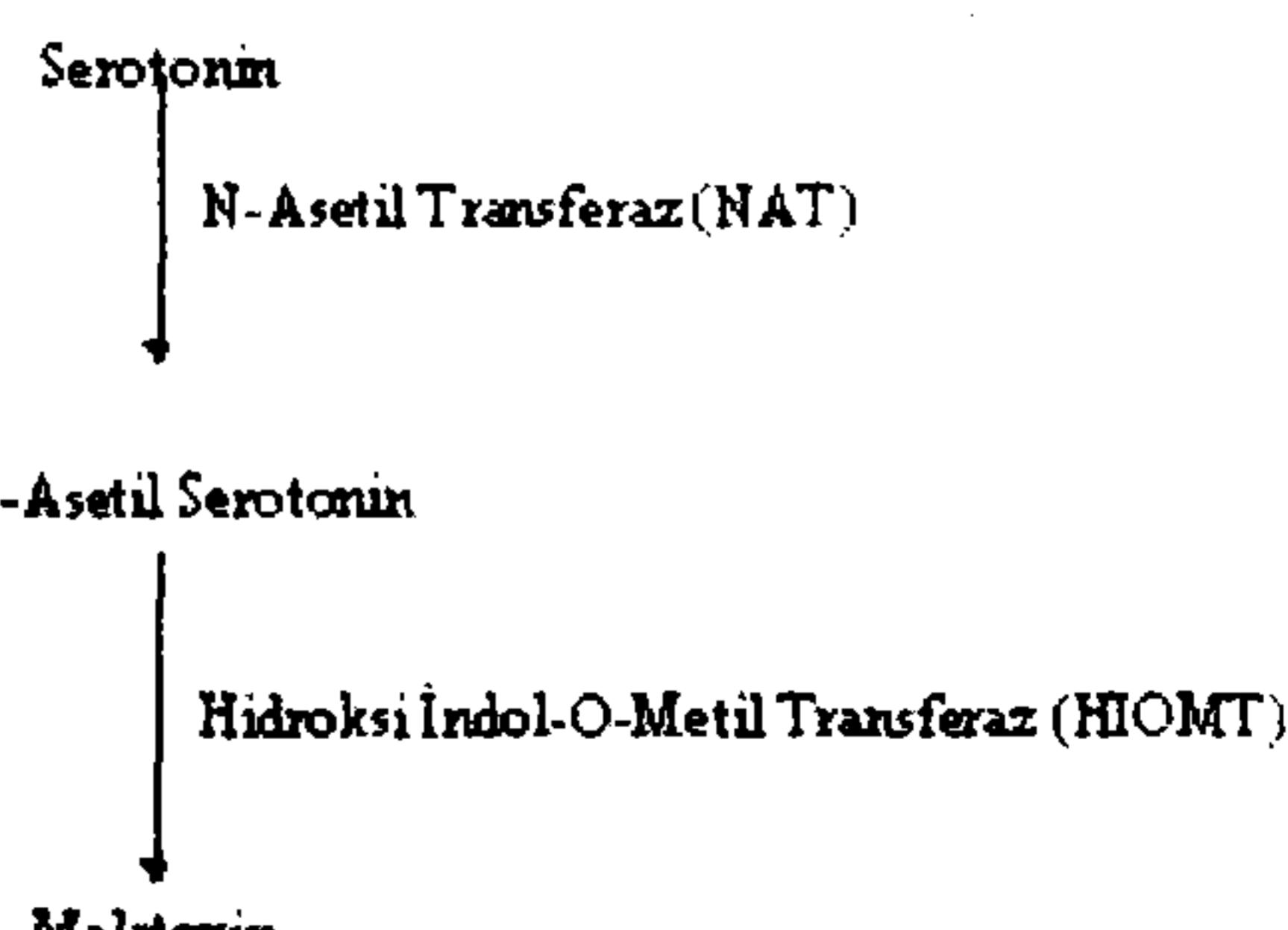
Melatonin

Pineal bezin en önemli hormonu melatonin (N-asetil-5-metoksitryptamin)'dır. Melatonin serotonininden sentezlenir. Serotonin ise triptofandan oluşturulmaktadır. Sentez evreleri ve ilgili enzimler Şekil 1'de gösterilmiştir.

Melatonin sentez ve salımında temel düzenleyici, ortamın ışık durumudur. Sentez ve salım karanlıkta artar, aydınlıkta azalır. Bu nedenle serum melatonin konsantrasyonu geceleri yüksek, gündüzleri ise düşüktür (1).

Melatoninin en iyi bilinen etkileri sirkadyen ritimlerin ve hayvanlarda mevsimsel üreme olaylarının düzenlenmesidir. Ayrıca, insan ve hayvanlarda bazı fizyolojik ve patolojik olaylarla ilgili olduğu konusunda yoğun bir bilgi

birikimi vardır (2). Üreme fonksiyonu, cinsel fonksiyonlar, çeşitli nöropsikiyatrik olaylar,



Şekil 1. Melatonin Sentezi

¹: Araş. Gör. Dr. , Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.

²: Yrd.Doç.Dr. , Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.

³: Prof.Dr. , Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.

Tablo I. İnsanda Melatoninin İlgili Olabileceği Olay ve Süreçlerden Başlıklar

Üreme ile İlgili Olaylar	Nöropsikiyatri	Diğer Süreçler
Menstruel Siklus	Uyku ve Uyku bozuklukları	Bağışıklık
Spermatogenez	Anoreksiya Nervoza	Kanser
Hipotalamik Amenore	Duygulanın Bozuklukları	Yaşlanma
Fremenstruel Sendrom	Epilepsi	Termoregülasyon
Puberte Prekoks	Şizofreni	Antioksidan Etki
Puberte Tarda	Mevsimsel Duygulanın Bozuklukları	Tiroid ve Adrenal Fonksiyonları Üzerine Etkileri
Kontraseptiv	Otizm	Trombosit Fonksiyonlarına Etkileri
		Jet-Lag vb Kronobiyolojik Değişimler

yaşlanma, termoregülasyon, bağışıklık sistemi ve kanser gibi birçok olay ve süreçteki etkisi bu güne kadar araştırılmıştır. Örneğin, melatoninun kandaki düzeyinin koroner hastalıklarda azaldığı şeklinde ilgi çekici kayınlara rastlanmaktadır (3). İnsanda melatoninun etkili olduğu ya da olabileceği öne sürülen fizyolojik ve patolojik durumların bir listesi Tablo I'de verilmiştir.

Pineal bezin melatonin salgılamasında spesifik bir mekanizmanın olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Fakat, vasküler sisteme direkt olarak salındığı konusunda fikir birliği vardır. Melatoninun pineal bezden dolaşım sistemine geçişinde lipofilik bir hormon olmasının önemli rolü olduğu bildirilmektedir (4).

Melatonin, karaciğerde hidroksilasyonla hızla yıkılır. Yıkım ürünleri sülürük ya da glukuronik asitle konjuge olduktan sonra idrarla atılır. Serum melatoninun idrardaki başlıca metaboliti 6-sulfatoksimelatonindir (1).

Melatoninun hedef hücrelere etkilerinin bu hücre membranlarındaki özel melatonin reseptörlerine bağlanarak ve ayrıca intraselüler etki ile olabileceği bildirilmektedir. Hedef hücre membranlarındaki özel reseptörler MLT 1 ve MLT 2 olmak üzere iki tiptir. Bunların da MLT 1A, MLT 1B, MLT 2A, MLT 2B şeklinde alt tipleri mevcuttur (1). Kandaki melatonin konsantrasyonu, hedef hücrelerin reseptör yoğunluğundaki değişimler ve çeşitli kimyasal modülatör maddelerin yoğunluğundaki değişimlerin melatoninun hedef hücrelere etkilerinde önemli rolü olduğunu düşündürmektedir (5).

Trombositler

Trombositler metabolik aktiviteleri çok yüksek, iç yapıları oldukça karmaşık, çekirdeksiz, disk şeklinde hücrelerdir. Bir milimetreküp kanda 150.000-300.000 trombosit bulunur ve ortalama ömrüleri 8-10 gündür (6).

Trombosit hücre membranı üzerinde yüzey reseptörü olarak görev yapan, trombosit fonksiyonları açısından önemli glikoproteinler bulunur. Yüzey reseptörü glikoproteinlerden glikoprotein Ib (GP Ib) trombositlerin kollajene tutunmalarında önemli rol oynar. Bu reseptör protein von Willebrand faktörle (vWF) birleşerek kollajene, böylelikle de subendotelyuma bağlanır (6-8). Son yıllarda GP Ib'nin glikoprotein IX (GP IX) ve glikoprotein V (GP V)'le kompleks oluşturarak trombosit adezyonunda rol aldığı bildirilmektedir (9). Glikoprotein IIb-IIIa (GP IIb-IIIa) ise fibrinojen ile bağlanır ve trombosit agregasyonunda görev alır (6,7,9,11).

Trombosit içinde yüzey bağlantılı tübüler sistem ve dens tübüler sistem olmak üzere iki kanal sistemi vardır. Yüzey bağlantılı tübüler sistem, trombosit membranının derin ve girintili çıkışlı invajinasyonundan ibarettir. Trombositlerin dış ortamla ve kendi salgıladıkları maddelerle daha yoğun şekilde etkileşmelerini mümkün kılar. Dens tübüler sistem ise yüzey bağlantılı tübüler sisteme yakın yerleşim gösterir. Buraları prostaglandin ve tromboksan sentez yeridir (7,8).

Trombositlerde dens granüller, alfa granüller ve lizozomlar ile peroksizomlar olmak üzere üç tip granül bulunur. Dens granüllerde adenin

ve guanin nükleotitleri (ADP, ATP, GTP, GDP), serotonin, kalsiyum ve pirofosfat iyonları, alfa granüllerde genelde trombosit adezyonuyla ilgili çeşitli proteinler vardır. Alfa granüllerde bulunan proteinlerin bazıları megakaryositler, endotel hücreleri, damar adventisiyal hücrelerince de salınır ve hem plazmada hem de damar duvarında bulunurlar (8).

Trombositlerin peroksizomlarında katalaz enzimi, lizozomlarında ise asit hidrolaz enzimi bulunur. Lizozomları alfa granüllerden ayırt etmek oldukça zordur. Lizozomal enzimlerin hemostazi izleyen dönemde hücre içi metabolizma artıklarının sindiriminden sorumlu olabilecekleri düşünülmektedir (6-8).

Bir kan damarı parçalandığında ya da herhangi bir şekilde hasara uğradığında erken doğal yanıt olarak vazokonstriksyon gerçekleşir. Bundan sonra kanamanın durdurulmasında birbirinden bağımsız iki olay hızla ve art arda ortaya çıkar. Bu olaylar trombosit tıkacı oluşumu ve pıhtılaşmadır. Trombositler her iki olayda da rol alırlar (6).

Trombositlerin başlıca özellikleri uyarıldıklarında şekil değiştirmeleri, adezyon, agregasyon ve sekresyondur. Damar endoteliyle temas ettiğinde trombositler aktive olur; şısmeye başlar, düzensiz bir şekil alır, yüzeylerinden sayısız pseudopodlar uzatırlar. Kontraktıl proteinler güçlü bir şekilde kasılarak granüllerinden kimyasal ajanların sekresyonunu sağlarlar. Sekresyon sonucu granüllerden çeşitli maddeler salgılanır. Özellikle çok miktarda adenozin difosfat (ADP) ve tromboksan A2 (Tx A2) salgılanır. ADP ve Tx A2, çevredeki trombositlere etki eder, onlar da diğer trombositleri aktive ederler. Oluşan bu zincirleme aktivasyon trombosit tıkacının meydana gelmesini sağlar (6,9).

Trombositlerin normalde sağlam damar endoteline adezyonu olmaz. Bu en azından kısmen, endotel hücrelerinden salinan prostaglandin I2 (PGI2) ve trombosit yüzeyini kaplayan glikoprotein örtü sayesindedir (6,9). Bütünlüğünü yitiren damar endotelindeki subendotelial liflere, özellikle kollajene trombositlerin adezyonunun GP Ib-V-IX yüzey reseptörleri ve vWF aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmektedir (10).

Melatoninin Trombosit Agregasyonuna Etkileri ve Trombosit Agregasyonundaki Diurnal Varyasyon

Trombosit agregasyonu, uyarılan ve şekil değiştiren trombositlerin birbirlerine yapışması olarak tanımlanır. Trombosit agregasyonuna neden

olan belli başlı faktörler, trombin, epinefrin ve ADP'dir. Trombositlerin agregasyonunda GP IIb-IIIa ile birleşen fibrinojen de önemlidir (8).

1980 yılında yapılan iki çalışma, melatoninin trombosit agregasyonu üzerine etkili olduğunu göstermiştir. Bunlardan ilki Leach ve Thorburn'un çalışmasıdır. Bu çalışmada melatoninin, trombositten zengin plazmada trombosit agregasyonu ve tromboksan salımını inhibe ettiği bildirilmiştir (12). Diğer çalışmada ise Gimeno ve arkadaşları melatoninin trombosit agregasyonunu inhibe ettiği gibi trombositlerde prostaglandin sentezini de inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu çalışmaların işliğinde, prostaglandin sentezinin inhibisyonunda melatonine bağlı bir mekanizmanın rolü olabileceği öne sürülmüştür (13,14).

Uyarılan trombositlerde fosfolipazların aktifleşmesiyle hücre membranından araşdonik asit serbestleşir. Serbestleşen araşdonik asitten ise siklooksijenaz enzimi etkisiyle prostaglandinler ve Tx A2 oluşur. Tx A2'nin kontraktıl proteinlerin aktivasyonunu sağlayarak trombositlerin sekresyon olaylarında etkili olduğu ileri sürülmektedir (5,9). Bundan başka uyarılmış trombositlerde şekil değişikliği oluşumunu indüklediği bildirilmektedir. Ayrıca Tx A2 güçlü bir agregasyon uyarıcısı olarak kabul edilmektedir ancak, çok kısa ömürlü bir madde olduğundan hızla Tx B2'ye dönüşür (9). Bu nedenle yapılan çalışmalarda Tx A2 yerine daha uzun ömürlü ve inert bir bileşik olan Tx B2 incelenmektedir.

Melatoninin agregasyon ve Tx B2 oluşumuna etkileri insan trombositten zengin plazmada araştırılmış ve araşdonik asit ile ADP'ye bağımlı agregasyonu inhibe ettiği bildirilmiştir. ADP agregasyon yapıcı ajan olarak kullanıldığında, melatoninin 10-6 M veya daha yüksek konsantrasyonları agregasyonu anlamlı şekilde inhibe etmektedir (15).

Beş sağlıklı erkek denekten akşam 21.30'dan sabah 9.30'a kadar iki saatlik aralarla kan örneklerinin alındığı başka bir çalışmada, plazma melatonin konsantrasyonunun saat 03.30'da pik yaptığı görülmüştür. Trombosit agregasyonu ve Tx B2 sentezine melatoninin maksimum inhibitör etkisi ise saat 01.30'da görülmüştür. Melatoninin Tx B2'yi inhibe edici etkisinin en az olduğu kan örneğinin, melatoninin kan konsantrasyon düzeyinin maksimum olduğu saat 03.30'da alınan kan örneği olması ise ilginçtir. Böylece insan trombositlerinin melatonine duyarlığının plazma melatonin konsantrasyonunun maksimum olduğu

düzeyden önce pik yaptığı şeklinde bir nokturnal varyasyonun varoluğu gösterilmiştir (16).

Melatoninin trombositlerde agregasyonu ve TxB2 sentezini nasıl inhibe ettiğine dair çalışmalar bu etkinin siklooksijenaz enzimi üzerinden olduğunu düşündürmektedir. Siklooksijenaz enzimi melatonin tarafından inhibe edilir, böylece hem trombosit agregasyonu hem de TxB2 sentezi inhibisyonu uğrar (Bakınız Şekil 2). Bunlardan farklı olarak, melatoninin kollajene bağımlı trombosit agregasyonunu da inhibe ettiği bildirilmektedir. Bu durumda melatoninin trombosit agregasyonunu siklooksigenaza bağlı yolun dışında en azından bir başka yolla daha inhibe ediyor olabileceği ileri sürülmüştür (16,17).

İnsan trombositlerinin melatonine verdiği yanılıarda diurnal değişikliklerin olduğu; ayrıca trombosit membranlarında melatonin bağlanma bölgelerinin varlığı ve melatonin konsantrasyonuyla trombositlerin melatonine verdiği yanıt arasında bir korelasyonun varlığı bildirilmektedir. Çeşitli saatlerde kan örnekleri alınarak trombositten zengin plazmalar hazırlanmış, bu plazmalara aynı miktardaki melatonin ilave edilmiş ve melatoninin agregasyonu ve TxB2 sentezini inhibe edici etkisinin farklı oranlarda olduğu görülmüştür. Genelde melatoninin inhibitör etkisi akşamları yüksek, sabahları düşük bulunmuştur. Ayrıca, ortamdaki melatonin konsantrasyonu artırıldıkça söz konusu inhibitör etkiler artınamıştır. Örneğin melatonin konsantrasyonu artırılınca (10-4 ve 10-5 M) melatoninin agregasyonu inhibe edici etkisinde artış yerine azalma olduğu görülmüştür. Bu durumda ortama ADP ilave edilmesi durumunda inhibitör etki yeniden belirginleşmiştir (5).

Sessiz miyokardiyal iskemi, anjina pektoris, miyokard enfarktüsü ve ani kardiyak ölümlerde sirkadyen varyasyonun söz konusu olduğu gösterilmiştir (18). Bu olayların özellikle sabahları pik yaptığı, akşam saatlerinde ise daha az görüldüğü bildirilmektedir.

Tofler ve arkadaşlarının 1987 yılında yapmış oldukları bir çalışmada *in vitro* trombosit agregasyonunda sabahları bir artış gösterilmiştir (19). Bundan sonra yapılan bazı çalışmalarda ise bu olayların tek başına özellikle trombosit agregasyonuna bağlı olmayıp ayrıca postür ve aktivite ile de ilgili olabileceği konusunda araştırmalar yayınlanmıştır (20). Daha sonra yapılan çalışmalar *in vivo* ve *in vitro* trombosit agregasyonunun sabah saatlerinde pikliğini göstermektedir (21).

Koroner kalp hastalıklarında bu diurnal

varyasyona neden olan birçok faktörden kuşkusuz bahsedilebilir. Bu faktörler arasında serum katekolamin düzeylerindeki artış, kalp hızı, kan basıncı sayılabilen gibi, klinik çalışmalar trombosit aktivasyonunun da tetikleyici bir faktör olarak rol oynadığını göstermektedir (19,22). Bu durumda koroner trombozdaki tetikleyici faktörlerin önemini koroner tromboza neden olan aterosiklerotik plaqın rüptüre olma mekanizmasını anlamak ve aydınlatmak oldukça önemlidir (18).

Melatoninin Trombosit Sekresyonuna Etkileri

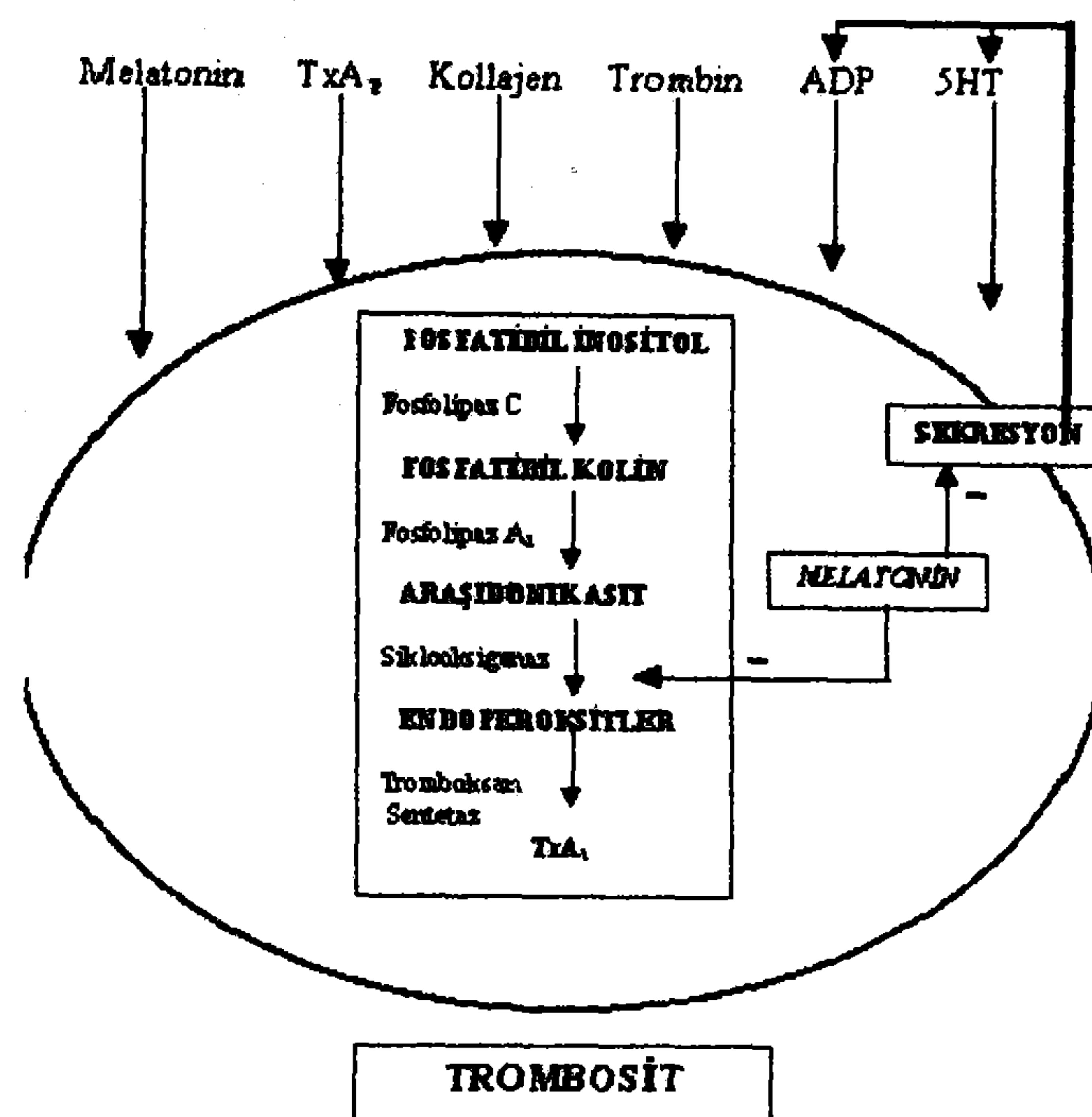
Trombositlerde melatonin bulunmaktadır ve konsantrasyonu insanda 0,6 pmol/mg, tavşanda ise 2,1 pmol/mg olarak rapor edilmiştir (5).

Melatoninin öncü maddesi N-Asetil Serotonin'dır. Serotoninden melatonin oluşumunda rol oynayan iki önemli enzim olan NAT ve HIOMT insan trombositlerinde varlığı gösterilmiştir (5). Ayrıca tavşan trombositlerinin serotonininden melatonin sentezleyebildiklerini gösteren bir çalışma da mevcuttur (23). Bu nedenle trombositlerin dens granüllerinde melatonin sentezlenebildiği kabul edilmektedir. Ayrıca trombosit membranlarında melatonin bağlanma bölgelerinin de gösterilmiş olması, trombositlerin melatoninin hem kaynaklarından, hem de hedeflerinden biri olduğunu düşündürmektedir. Ancak trombositlerin önemli bir melatonin kaynağı olduğunu gösterecek yeni çalışmalara gereksinim vardır (5).

Melatonin trombositlerden serotonin (5HT) ve ATP salınımını inhibe eder. Trombositlerden 3H-5HT'nin salımı, kalsiyuma bağımlı serotonin salımının bir göstergesidir. Melatoninin serotonin ve ATP salımını inhibe edici etkisi sabaha göre akşam daha yüksektir. Bu sabah akşam farkı özellikle ATP salımında belirgindir, serotonin salımında ise daha az belirgindir. Melatoninin trombositlerden serotonin ve ATP salımını inhibe edici etkisinin ya direkt olarak serotonin ve ATP salımını etkileyerek, ya da TxB2 sentezini inhibe etmek suretiyle olabileceği düşünülmektedir (5,17,24).

İnsan Trombositlerinin Melatonine Afinitesi

Gün boyunca yalnız serum melatonin konsantrasyonu değişmez, melatoninin etkin metabolitlerinin konsantrasyonları ve ayrıca hedef hücrelerin melatonine duyarlılıkları da değişir. Trombositlerin melatonine duyarlılıkları gün içinde değişim gösterir. Bu değişimde melatonin konsantrasyonu, melatoninin etki etiği reseptörler,



Şekil 2. Trombosit Aktivasyon Süreçlerinde Melatonin'in Etkisi

melatonin agonistleri ve melatonin bağlanma antagonistlerinin (serotonin gibi) serum konsantrasyonları önemli rol oynar (24).

Litaratürde trombosit membranlarında melatonin bağlanma bölgelerinin varlığı ve melatonin konsantrasyonuyla trombositlerin melatonine verdiği yanıt arasında bir korelasyonun varlığı bildirilmektedir (5,16).

Melatonin'in Trombopoeze Etkileri

Normal yetişkin bir insanda günde ortalama 180×10^9 trombosit oluşur (25). Trombosit oluşumu megakaryositlerden kopma şeklindedir. Bir megakaryositten bu yolla binlerce trombosit meydana gelmektedir (8).

Melatoninun bazı trombositopenisi olan hastalarda trombosit sayısını artırdığı bildirilmektedir. Lissoni ve arkadaşları tedaviye dirençli trombositopenili 14 hastaya; 1 ay süreyle, günde 20 mg, oral, akşam-tek doz melatonin vermişler; 2., 7., 15. ve 30. günlerde kan sayımı yapmışlardır. 4 dissemine intravasküler koagülasyon (DIC)'lu hastada melatoninun trombosit sayısını etkilemediğini; diğer 10 hastadan 8'inde trombosit sayısını artırdığını bildirmiştir.

Hastaların tümü de kanserli olup trombositopeni nedeni 4'ünde DIC, 6'sında kemik iliği infiltrasyonu, 2'sinde radyoterapi ve 2'sinde kemoterapi olarak bildirilmiştir (26). Literatürde buna benzer başka çalışmalar da bulunmaktadır (27-30).

Sonuçta etki mekanizması tam olarak bilinmese de melatoninun trombosit agregasyonunu, trombosit sekresyon fonksiyonlarını inhibe edici bir rol oynadığı, trombopoezde etkili olduğu ve insan trombositlerinin melatonine verdikleri yanıtarda diurnal değişikliklerin olduğu ileri sürülmektedir.

Melatonin özellikle santral sinir sistemini etkileyen bir hormondur. Fakat santral sinir sistemine etkilerini sağlıklı bir şekilde sağlamak kolay değildir. Eğer trombositler ideal bir melatonin hedef hücresi ise ve bu hormonun bu hücrelere etkileri ve etki mekanizmaları belirlenebilirse, bu bulguların santral sinir sistemine etkilerini ve etki mekanizmalarını anlamada da yardımcı olacağı düşünülmektedir (5). Ayrıca plazma melatonin düzeyinin trombosit fonksiyonlarındaki etkilerin araştırılması, örneğin koroner tromboz gibi sorunlarla ilişkisi olup olmadığıının incelenmesi yararlı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Brzezinski A: Melatonin in humans. *The New England Journal of Medicine*. 1997; 336:186-195.
2. Yaprak M: Melatoninin fizyolojik etkileri. *Haseki Tıp Bülteni* 1996; 34:157-163.
3. Brugger P, Markl W, Herold M: Impaired nocturnal secretion of melatonin in coronary heart disease. *Lancet* 1995; 345:1408.
4. Reiter RJ: Pineal melatonin: Cell Biology of its synthesis and of its physiological interactions Endocrine Reviews. 1991; 2:151-180.
5. Cardinali DP, Del Zar MM, Vacas MI: The effects of melatonin in human platelets. *Applia*. 1993; 43:1-13.
6. Guyton AC, Hall JE: *Textbook of medical physiology*. 9 th edit. Philadelphia: WB.Saunders Company,1996; 463-472.
7. Besa EC, Catalano PM, Kant JA, Jefferies LC: *Hematology*. Baltimore, Maryland: Williams&Wilkins,1992; 201-241.
8. Bithell TC: Platelets and megakaryocytes. In Lee GR, Bithell CT, Foerster J, Athens JW, Lukens JN (eds) *Wintrobe's Clinical Hematology*. Ninth Edition Philadelphia. London: Lea and Febiger,1993: 511-539.
9. Bithell TC: The physiology of primary hemostasis. In Lee GR, Bithell CT, Foerster J, Athens JW, Lukens JN (eds) *Wintrobe's Clinical Hematology*. Ninth Edition Philadelphia. London: Lea and Febiger,1993: 540-565.
10. Sullam PM, Hyun WC, Szollosi J, Dong JF, Foss WM, Lopez JA: Physical proximity and functional interplay of the glikoprotein Ib-IX-V complex and the Fc reseptör fc gamma RIIA on the platelet plazma membrane. *J. Biol. Chem.* 1998; 273:5331-5336.
11. Harrington RA, Kleiman NS, Granger CB, Ohman ME, Berkowitz SD: Relation between inhibition of platelet aggregation and clinical outcomes. *Am. Heart J.* (suppl 4)1998; 136:S43-S50.
12. Leach C, Thorburn GA: comparision of the inhibitory effects of melatonin and indomethacin on platelet aggregation and thromboxane release. *Prostaglandins*. 1980; 20:51-56.
13. Gimeno MF, Landa A, Spezianlen NS, Cardinali DP, Gimeno AL: Melatonin blocks in vitro generation of prostoglandins by the uterus and hypotalamus. *Eur.J.Pharmacol.* 1980; 62:309-317.
14. Gimeno MF, Ritta MN, Bonacossa A, Lazzari M, Gimeno AL, Cardinali DP: Inhibition by melatonin of prostoglandin synthesis in hypotalamus,uterus and platelets. *Adv Biosci.* 1980; 29:147-150.
15. Kornblith LI, Finocchiaro L, Molinas FC: Inhibitory effect of melatonin on platelet activation induced by collagen and arachidonic acid. *Pineal Res.* 1993; 14:184-191.
16. Vacas MI, Del Zar MM, Martinuzzo M, Falcon C, Carreras LO, Cardinali DP: Inhibition of human platelet aggregation and thromboxane B2 production by melatonin. Correlation with plasma melatonin levels. *Pineal Res.* 1991; 11:135-139.
17. Martinuzzo M, Del Zar MM, Cardinali DP, Carreras LO, Vacas MI: Melatonin effect on arachidonic acid metabolism to cyclooxygenase derivatives in human platelets. *J Pineal Res* 1991; 11:111-115.
18. Muller JE: Circadian variation and triggering of acute coronary event. *American Heart Journal* (suppl 4) 1999; 136: S1-S8.
19. Tofler GE, Brezinski DA, Schafer AI, Cziesler CA, Rutherford JD, Willich SN at all: Concurrent morning increase in platelet aggregability and the risk of myokardial infarction and sudden cardiac death. *N. Engl. J. Med.* 1987; 316:1514-1518.
20. Jafri SM, VanRollins M, Ozawa T, Mammen EF, Goldberg DA, Goldstein S: Circadian Variation in Platelet Function in Healthy Volunteers. *The American Journal of Cardiology* 1992; 69:951-954.
21. Musumeci V, Rosa S, Caruso A, Zuppi C, Zappacosta B, Tutinelli F: Abnormal diurnal changes in in vivo platelet activation in patients with atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis* 1986; 60:231-236.
22. Brezinski DA, Tofler GH, Muller JE, Pahjola-Sintonen S, Wellich SN, Schafer AI at all.: Morning increase in platelet aggregability association with assumption of the upright posture. *Circulation* 1988; 78:35-40.
23. Launay JM, Lamaitre BJ, Husson HP, Dreux C, Hartman L, Da Prada M: Melatonin synthesis by rabbit platelets. *Life Sci.* 1982; 31:1487-1494
24. Modai I, Malmgren R, Asberg M, Beving H: Circadian rhythm of serotonin transport in human platelets. *Psychopharmacology* 1986; 88:493-495.

25. Harker LA, Fink CA: Thrombokinetics in man. *J.Clin.Invest.* 1969; 48:963.
26. Lissoni P, Tancini G, Barni S, Paolorossi F, Rossini F, Maffe P et all: The pineal hormone melatonin in hematology and its potential efficacy in the treatment of thrombocytopenia. *Recenti Prog Med.* 1996; 87:582-585.
27. Lissoni P, Tancini G, Paolorossi F, Mandala M, Ardizzoia A, Malugani F et all: Chemoneuroendocrine therapy of metastatic breast cancer with persistent thrombocytopenia with weekly low-dose epirubicin plus melatonin: a phase II study. *J Pineal Res.* 1999; 26(3):169-173
28. Lissoni P, Tancini G, Barni S, Paolorossi F, Rossini F, Maffe P, Di Bella L: The pineal hormone melatonin in hematology and its potential efficacy in the treatment of thrombocytopenia. *Recenti Prog Med.* 1996; 87(12):582-585
29. Lissoni P, Barni S, Brivio F, Rossini F, Fumagalli L, Ardizzoia A, Tancini G: A biological study on the efficacy of low-dose subcutaneous interleukin-2 plus melatonin in the treatment of cancer-related thrombocytopenia. *Oncology.* 1995; 52(5):360-362
30. Viviani S, Negretti E, Orazi A, Sozzi G, Santoro A, Lissoni P et all.: Preliminary studies on melatonin in the treatment of myelodysplastic syndromes following cancer chemotherapy. *J Pineal Res.* 1990; 8(4):347-354