

“Release” intra- e post- dialitico di PDGF-AB

G. Cianciolo, G. Donati, A. De Pascalis, C. Manna, S. Iannelli, L. Coli, C. Raimondi, V. Dalmastrì, C.D. Marseglia, S. Stefoni

Dipartimento di Medicina Clinica e Biotecnologia Applicata - Servizio di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Policlinico S. Orsola, Bologna

La patologia cardiovascolare rappresenta la causa più frequente di morbilità e di mortalità nei pazienti in terapia sostitutiva renale. Nei pazienti in trattamento dialitico la mortalità per malattia cardiovascolare è risultata circa 20 volte superiore rispetto alla normale popolazione europea sovrapponibile per età, sesso e razza (1).

Nel paziente emodializzato, in aggiunta ai ben noti fattori di rischio che possono predisporre o stimolare il processo aterosclerotico (età avanzata, fumo, ipertensione e ipercolesterolemia), altri fattori sembrano in grado di accelerare tale processo e in particolare: l'ipercolesterolemia, l'iperparatiroidismo, l'iperomocisteinemia e i fattori protrombotici (2-5).

Recentemente alcuni autori hanno ipotizzato il possibile ruolo nel processo aterosclerotico dell'attivazione piastrinica e dei fattori di crescita. Fra di essi sembra avere particolare rilievo il platelet-derived growth factor (PDGF) alla luce di numerose osservazioni sperimentali che ne hanno riconosciuto il ruolo specifico nella progressione delle lesioni vascolari aterosclerotiche (6-8).

Il PDGF è uno dei più importanti fattori di crescita in grado di agire su

tutte le cellule di derivazione mesenchimale. Il suo peso molecolare è compreso in un range variabile fra i 28000 e i 35000 Daltons (Da), con una vita media inferiore ai 2 minuti. Viene sintetizzato dai fibroblasti, dalle cellule endoteliali, dai macrofagi e dalle piastrine. Il PDGF è costituito da due differenti catene glicoproteiche (A e B), interconnesse da legami covalenti. Le due catene sono codificate da geni differenti, che sono espressi indipendentemente consentendo pertanto alle cellule di sintetizzare tre molecole isoforme: PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB. L'isoforma AB è depositata principalmente all'interno degli α -granuli piastrinici (9). La concentrazione sierica per il PDGF-AB nella popolazione normale è di circa 29.7 ± 14 ng/ml.

Il PDGF, ed in particolare l'isoforma AB, induce la proliferazione delle cellule muscolari lisce, dei macrofagi, e dei fibroblasti; ciascuna di tali cellule bersaglio, a sua volta, può sintetizzare lo stesso PDGF. Il PDGF stimola inoltre la sintesi della matrice extracellulare, promuove la migrazione delle cellule muscolari lisce agendo da potente stimolo per la loro contrazione (10). È ben noto che tali alterazioni caratterizzano l'evoluzio-

ne della placca aterosclerotica (11). Gli studi sino ad oggi condotti riguardo al ruolo del PDGF nelle lesioni aterosclerotiche sono stati effettuati su pazienti non uremici. La patogenesi dell'aterosclerosi accelerata nei pazienti in emodialisi è multifattoriale, ma è probabile che in aggiunta ai ben conosciuti fattori di rischio altri meccanismi, stimolati o accelerati dalla terapia dialitica, giochino un ruolo importante.

L'attivazione piastrinica intradialitica, con il potenziale rilascio di diversi fattori di crescita che agiscono da mediatori, può rappresentare, a nostro avviso, una interessante area di ricerca.

Come è noto, durante la sessione dialitica, il contatto sangue-materiali artificiali provoca il “release” del contenuto sia dei granuli densi piastrinici, contenenti adenosina difosfato e serotonina, sia degli α -granuli, che contengono il Fattore Piastrinico 4 (PF4, 358.000 Da), la β -Tromboglobulina (β TG, 35800 DA) e il PDGF. Per quanto riguarda la “release reaction”, esiste un consenso generale nel considerare PF4 e β TG indici attendibili di attivazione piastrinica intradialitica (12). Anche la somministrazione intradialitica di eparina nel cir-

cuito extracorporeo può presumibilmente svolgere un ruolo sull'aggregazione piastrinica. La patogenesi di tale effetto proaggregante non è ben nota e può essere mediata da: 1) l'inibizione dell'adenilatociclasia piastrinica; 2) la modificazione del metabolismo delle prostaglandine; 3) l'interazione diretta con un recettore piastrinico per l'eparina (13, 14).

Considerando gli importanti effetti biologici del PDGF ed il suo ruolo nelle lesioni vascolari aterosclerotiche, potrebbe risultare interessante valutare le eventuali modificazioni nei livelli sierici di questa citochina durante e dopo la sessione emodialitica in relazione all'attivazione piastrinica causata dal contatto sangue-materiale artificiale.

Nel presente studio abbiamo pertanto valutato i livelli sierici di PDGF-AB intra- e postdialitici, consensualmente ai livelli plasmatici di PF4 e βTG, in corso di sedute emodialitiche condotte usando una membrana cellulosa.

Pazienti e metodi

Pazienti

Dieci pazienti, in trattamento dialitico periodico (dialisi convenzionale con membrana di Cuprophan) da almeno 12 mesi, erano inclusi nello studio. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti affetti da diabete, malattie mieloproliferative o alterazioni coagulative, e in trattamento con farmaci anticoagulanti/antiaggreganti o Eritropoietina. Le caratteristiche dei pazienti sono riportate nella Tabella I.

Modalità dialitiche

Ciascun paziente è stato sottoposto a cinque sedute emodialitiche consecutive, per un totale di 50 sedute, con una membrana di Cuprophan (Bellco 1508, sterilizzazione con ossido di etilene, 1.3 m² di superficie, Kuf 7.4). Tutte le sedute di dialisi sono state eseguite con la seguente modalità: dialisi convenzionale con bagno acetato (concentrazione di calcio 3.5 mEq/L), durata di 4 ore, ultrafiltrazione oraria pari a 500 ml/h, flusso

TABELLA I - CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI SELEZIONATI

Pazienti (no.)	10
Età (anni)	54.5 ± 11
Sesso (M/F)	6/4
RDT (mesi)	53.7±43.9
Kt/V	1.4 ± 0.2
Ricircolo (%)	7 ± 3
Ematocrito (%)	27 ± 4
Piastrine (1000/mmc)	174.1 ± 23.5
PT (%)	98 ± 7
PTT (s)	25 ± 3
aPTT (s)	38 ± 4

sangue 310 ± 30ml/min, flusso dializzato 500 ml/min. In nessuna sessione è stata rilevata la presenza di aria nel circuito extracorporeo.

In ogni seduta sono state impiegate le stesse procedure di eparinizzazione: nel lavaggio iniziale, 2 litri di soluzione fisiologica con 20.000 UI di eparina standard (Eparina sodica, Vister by Parke-Davis). Durante la procedura di connessione risultavano pertanto somministrate al paziente 500 UI di eparina standard, seguite da 4000 UI in infusione intradialitica continua.

Campionamento

Per valutare le variazioni intra- e postdialitiche delle molecole studiate, il PDGF-AB è stato dosato su siero, mentre il PF4 e la βTG sono stati determinati su plasma.

I campioni di sangue sono stati prelevati a 0, 15, 30, 60, 120, 180 e 240 minuti durante la seduta emodialitica sia nel sangue periferico che, per valutare la differenza artero-venosa, nelle linee arteriosa e venosa del circuito extracorporeo. Il sangue periferico è stato prelevato dal braccio controlaterale alla fistola. Durante la sessione emodialitica, il prelievo arterioso, quello venoso, e il campione di sangue periferico sono stati prelevati contemporaneamente da tre operatori diversi. Un minuto prima della fase di prelievo dei campioni il flusso sangue è stato ridotto a circa 100 ml/min e la velocità di ultrafiltrazione è stata ridotta a 0. Nel periodo post-

dialitico i campionamenti sono stati effettuati ad 1, 4 e 20 ore dal termine di ogni seduta. La conta piastrinica è stata determinata nel sangue periferico agli stessi intervalli di tempo sia nel periodo intra-dialitico che nel periodo dopo la dialisi. Tutti i dati ottenuti sono stati corretti per l'emoconcentrazione (valutata come variazione della protidemia totale del sangue periferico) per ridurre il rischio di sovrastima delle molecole rilasciate. La riduzione di volume ematico è stata calcolata a 0, 30, 60, 120, 180 e 240 minuti e questa riduzione percentuale è stata applicata ai valori di PDGF-AB, βTG e PF4 rilevati durante lo studio.

Allo scopo di distinguere l'effetto sulle molecole studiate (target) del circuito extracorporeo dall'effetto proaggregante dell'eparina ogni paziente studiato ha ricevuto un bolo isolato di eparina in tre differenti occasioni. I campioni di sangue sono stati prelevati a 0, 15, 30 minuti dopo ogni singolo bolo, i pazienti sono stati quindi sottoposti a una sessione emodialitica utilizzando una dose ridotta di eparina. Tutti i test sono stati eseguiti in doppio sullo stesso campione.

Per ottenere i campioni di siero necessari per il dosaggio di PDGF-AB abbiamo utilizzato provette per la separazione del siero e abbiamo lasciato coagulare il campione per almeno 30 minuti a temperatura ambiente. I campioni sono stati quindi centrifugati per 10 minuti a 1000 g circa. Ta-

le procedura è stata ripetuta fino ad ottenere un siero privo di elementi corpuscolati. Il siero è stato quindi raccolto in una seconda provetta e conservato a -20°C fino all'esecuzione del test.

Per quanto riguarda il dosaggio di PF4 e βTG , il sangue è stato raccolto in DIATUBES, contenenti citrato, adenosina, teofillina e dipiridamolo. Dopo la puntura della vena il primo ml di sangue è stato scartato e i successivi 4.5 millilitri sono stati raccolti e aggiunti a 0.5 ml di soluzione anticoagulante. Le provette sono state poste in ghiaccio liquido e centrifugato dopo 15 minuti a 2000 g per 30 minuti. Un terzo del plasma è stato raccolto nella regione intermedia del supernatante, quantificato e congelato immediatamente a -80°C . I tests quantitativi sono stati eseguiti entro 2 settimane.

Il PDGF è stato determinato mediante ELISA utilizzando dei kit commerciali (Quantikine, R&D System). βTG e PF4 sono stati determinati su plasma mediante ELISA, usando kit commerciali (Stago, Boehringer Mannheim).

I valori plasmatici di aPTT sono stati misurati mediante un test al caolino attivato (Behringwerke AG). L'attività plasmatica dell'eparina è stata determinata usando un substrato cromogenico antiXa.

Analisi statistica

In considerazione dell'ampia variabilità individuale dei valori basali di PDGF-AB, PF4 e βTG , abbiamo deciso di stabilire la percentuale di variazione di ogni determinazione rispetto al livello T0, sia nella valutazione intradialitica che in quella postdialitica. Abbiamo anche determinato la variazione percentuale della differenza arterovenosa ad ogni intervallo di tempo considerato per tutte e tre le molecole studiate.

I dati sono presentati come deviazioni standard medie. La valutazione statistica è stata eseguita mediante il programma statistico Statview 4.01 per Macintosh. One-way ANOVA è stata impiegata per determinare la significatività statistica; il t-test di Student per dati appaiati è stato

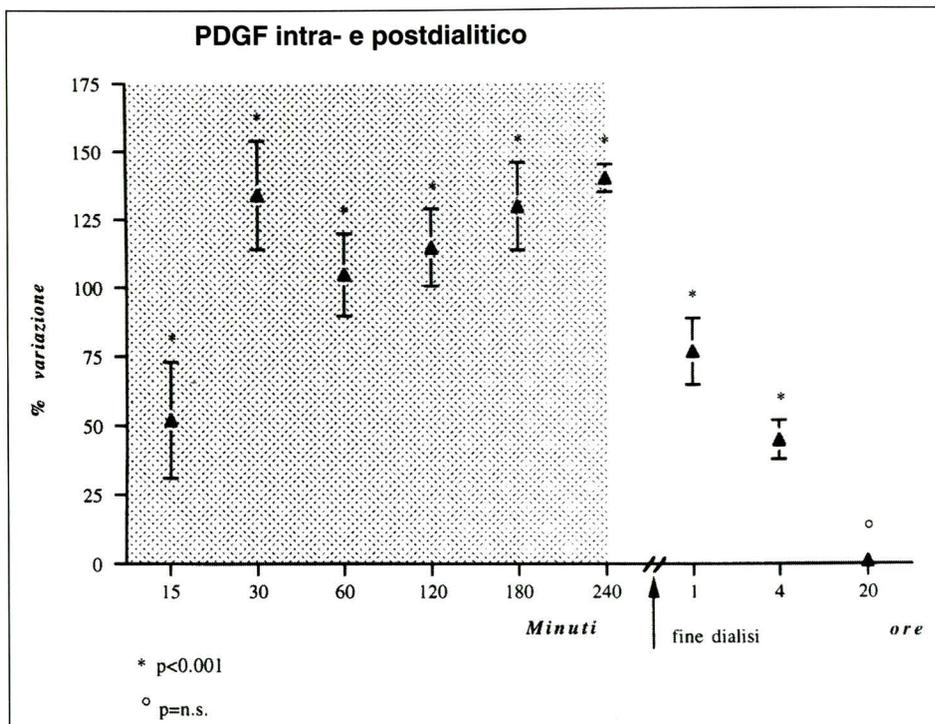


Fig. 1 - PDGF-AB ematico intra- e postdialitico eseguito con membrana di Cuprophane. I dati sono presentati come variazione percentuale rispetto ai valori basali (media \pm SD); la valutazione statistica è stata eseguita mediante ANOVA. * $p < 0.001$; ° $p = \text{n.s.}$

TABELLA II - DIFFERENZA ARTERO-VENOSA DI PDGF-AB, βTG E PF4

Tempo (min)	PDGF-AB (%)	βTG (%)	PF4 (%)
15	46 \pm 3	39 \pm 11	43 \pm 9
30	42 \pm 6	54 \pm 16	59 \pm 11
60	45 \pm 7	42 \pm 8	41 \pm 6
120	50 \pm 7	44 \pm 14	40 \pm 12
180	52 \pm 5	41 \pm 9	49 \pm 5
240	55 \pm 6	45 \pm 12	64 \pm 14

impiegato per confermare i dati ottenuti con il one-way ANOVA.

Risultati

PDGF-AB

Nella nostra popolazione dialitica, i livelli sierici di PDGF-AB erano pari a 35.0 ± 18 ng/ml al tempo T0. I livelli sierici di PDGF-AB, hanno mostrato un incremento del $134 \pm 20\%$ dopo 30 minuti ($p < 0.001$), con un successivo lento decremento ($105 \pm 15\%$, $p < 0.001$) alla fine della prima ora

(Fig. 1). Durante la seconda metà della seduta di dialisi abbiamo riscontrato un secondo progressivo aumento nei livelli sierici di PDGF-AB. A 240 minuti l'incremento percentuale di crescita era pari al $140 \pm 5\%$ rispetto al valore T0. In tutti i prelievi eseguiti i livelli di PDGF-AB determinati nella linea venosa erano costantemente più alti rispetto a quelli riscontrati nella linea arteriosa (Differenza arterovenosa, Tab. II). In particolare, la differenza arterovenosa mostrava un picco di circa $22 \pm 6\%$ dopo 30 minuti

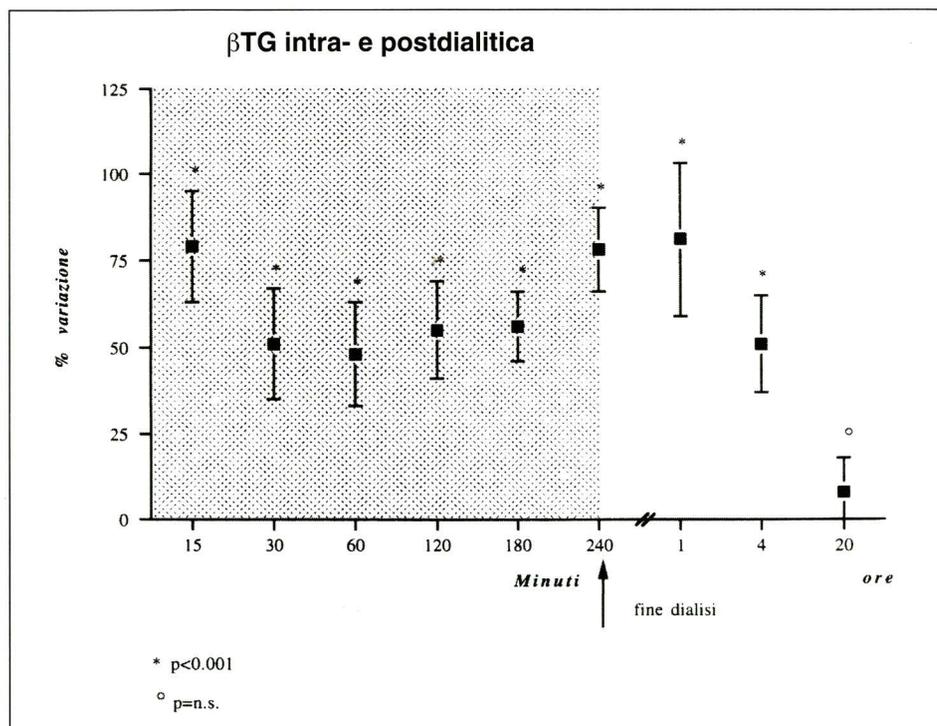


Fig. 2 - β TG ematica intra- e postdialitica con membrana di Cuprophane. I dati sono presentati come variazione percentuale rispetto ai valori basali (medie \pm SD); la valutazione statistica è stata eseguita mediante ANOVA. * $p < 0.001$; ° $p = n.s.$

TABELLA III - VALORI DI PDGF-AB, β TG E PF4 DOPO IL BOLO DI EPARINA

Tempo (min)	PDGF-AB (%)	β TG (%)	PF4 (%)
15	9 \pm 4	10 \pm 4	21 \pm 5
30	15 \pm 5	14 \pm 5	14 \pm 6

circa, una lenta crescita nella seconda ora della sessione (+20 \pm 7%) ed una ulteriore crescita nella seconda metà della sessione di dialisi, circa +32 \pm 5% dopo 180 minuti e +35 \pm 6% alla fine della dialisi (240 minuti). I dati relativi al periodo postdialitico (espressi come variazione percentuale rispetto al tempo 0) mostrano una progressiva riduzione ai livelli basali entro 24 ore dal termine della seduta.

La riduzione percentuale era marcata a circa 1 ora dalla fine della dialisi (da 140 \pm 5% a 77 \pm 12%). Dopo 4 ore dal termine della sessione il PDGF-AB si riduceva ulteriormente (da 77 \pm 12% a 45 \pm 7%) ritornando ai

valori basali solo dopo 20 ore dal termine della sessione. Dopo il bolo di eparina, i livelli periferici di PDGF-AB sono aumentati del 15 \pm 5% ($p < 0.001$) dopo 30 minuti (Tab. III).

β TG

I livelli plasmatici intra-dialitici di β TG sono risultati più elevati rispetto ai valori basali durante tutte le sedute testate. In particolare la variazione percentuale ha mostrato due picchi di concentrazione dopo 15 minuti (79 \pm 16%) e dopo 240 minuti (78 \pm 12%; Fig. 2).

La variazione percentuale relativa alla differenza arterovenosa di β TG

(Tab. II) mostra un picco di concentrazione a 30 minuti (+79 \pm 16%), ed a 240 min (+45 \pm 12%).

Nel periodo post-dialitico abbiamo rilevato una riduzione dei livelli plasmatici periferici di β TG (da 81 \pm 22% a 51 \pm 14% 4 ore dopo il termine della sessione), e un ritorno ai valori basali solo dopo 20 ore (Fig. 2).

Dopo il bolo isolato di eparina i valori periferici di β TG hanno mostrato un incremento del 14 \pm 5% ($p < 0.001$) dopo 30 minuti (Tab. III).

PF4

Il livelli plasmatici intra-dialitici di PF4 nel sangue periferico sono risultati persistentemente più elevati rispetto ai valori di base (Fig. 3). La variazione percentuale ha mostrato in particolare due picchi di concentrazione: a 15 minuti (+43 \pm 16%), ed a 240 minuti (+49 \pm 16%).

La variazione percentuale della differenza arterovenosa di PF4 (Tab. II) ha mostrato un picco di concentrazione dopo 30 minuti (59 \pm 11%) ed a 240 min (65 \pm 16%).

Nel periodo post-dialitico abbiamo rilevato una progressiva riduzione dei livelli plasmatici di PF4, che ritornavano ai valori basali solo dopo 20 ore dal termine della sessione.

Dopo il bolo isolato di eparina i valori di PF4 nel sangue periferico hanno mostrato un picco a 21 \pm 5%, ($p < 0.001$) seguito da una riduzione dopo 30 minuti (15 \pm 6%; Tab. III).

Conta piastrinica

Nella fase intradialitica, la conta piastrinica ha mostrato una caduta transitoria di circa il 15% dopo 30 minuti, con valori successivamente stabili durante l'intera sessione e nel successivo periodo post-dialitico.

aPTT e attività anti FXa

I valori di aPTT sono stati monitorizzati durante ciascuna sessione dialitica: e sono risultati pari a 85 \pm 5 secondi dopo 1 ora dall'inizio della dialisi e 70 \pm 5 secondi al termine della seduta. L'attività plasmatica dell'eparina, misurata come attività anti fattore Xa, si è mantenuta fra 0.7 e 0.95 UI/ml (dopo 2 ore).

Discussione

L'attivazione e l'aggregazione piastrinica, e l'attivazione del sistema coagulativo sono i più precoci e i più importanti fenomeni che fanno seguito al contatto fra il sangue e la membrana artificiale.

Dopo l'adsorbimento del *protein layer*, le piastrine aderiscono alla membrana dialitica, perdono la loro forma discoide, diventano irregolarmente sferiche dando luogo alla *release reaction* (15). La *release reaction* è un processo secretivo che fa seguito alla aggregazione piastrinica nel corso del quale il contenuto dei granuli viene riversato nel sangue. La *release reaction* intradialitica è indotta sia da fattori di superficie (le caratteristiche macro e microscopiche, lo stato fisico chimico della membrana di dialisi), sia dal tipo di sterilizzazione (in particolare Ossido di Etilene), sia da fattori circolanti, come la trombina, l'eparina, ADP, il trombosano A2, il fibrinogeno, il fattore di Von Willebrand ed altri (16-18).

L'attivazione piastrinica e la conseguente *release reaction*, sono dovute principalmente al contatto piastrine-membrana dialitica (19). Il nostro studio conferma una apprezzabile attivazione piastrinica: il PDGF-AB, la β TG, ed il PF4 sono cospicuamente rilasciati nel sangue nei primi minuti della sessione dialitica, potendo pertanto essere considerati marker attendibili dell'attivazione piastrinica.

Il livelli periferici di PDGF-AB risultavano aumentati del 134% dopo 30 minuti, persistendo elevati durante tutto il periodo intra-dialitico. A questo incremento iniziale contribuisce presumibilmente, anche se in grado minore, l'effetto proaggregante dell'eparina come confermato indirettamente dall'aumento del PDGF-AB ($+15\pm 5\%$) riscontrato 30 minuti dopo il bolo isolato di eparina. L'effettivo release di PDGF-AB, può presumibilmente essere sottostimato, qualora si consideri la ridotta emivita (<2 minuti) di questa molecola, che esita in una sua rapida rimozione dal circolo ematico.

L'ulteriore incremento dei livelli di

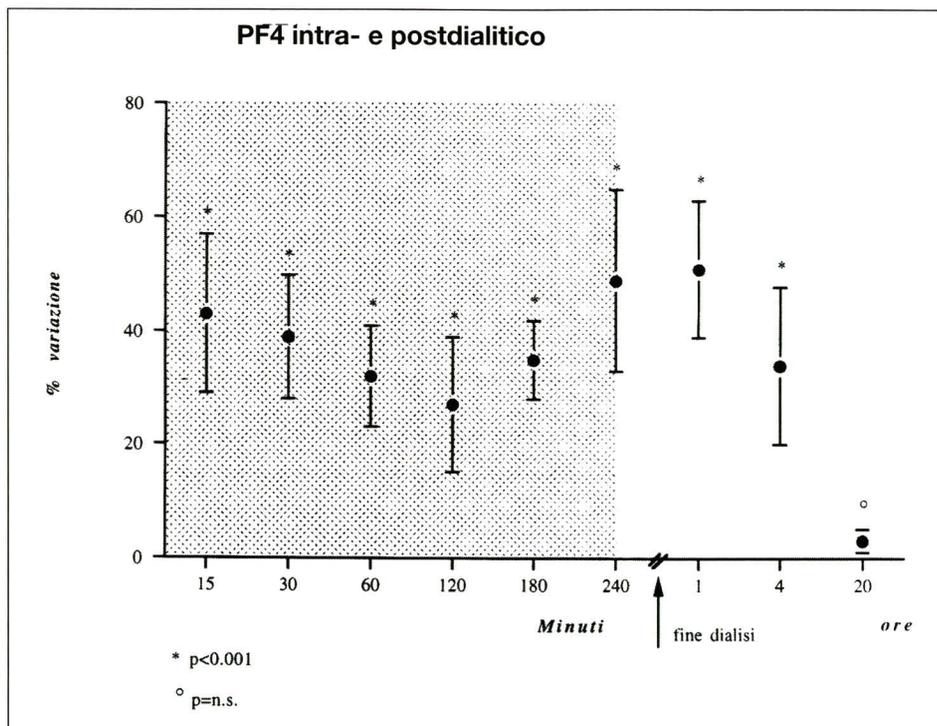


Fig. 3 - PF4 ematico intra- e postdialitico con membrana di Cuprophane. I dati sono presentati come variazione percentuale rispetto ai valori basali (medie \pm SD); la valutazione statistica è stata eseguita mediante ANOVA. * $p < 0.001$; ° $p = ns$.

PDGF-AB osservato nella seconda metà della sessione di dialisi è probabilmente un processo multifattoriale e può essere correlato a: 1) il progressivo incremento del contenuto di fibrinogeno sulla membrana dialitica che stimola ulteriormente l'aggregazione piastrinica (20); 2) la progressiva comparsa in circolo di nuove piastrine più reattive ai fattori proaggreganti. A questo proposito è noto che durante la circolazione extracorporea le piastrine sono sia continuamente rimosse dal circolo sia immesse in esso, per cui nel sangue è presente una popolazione eterogenea di piastrine vecchie e nuove (21-22); 3) la emocoagulazione intradialitica con un incremento relativo di fattori procoagulanti ed aggreganti.

I valori più elevati di PDGF-AB riscontrati nella linea venosa rispetto a quelli della linea arteriosa (differenza artero-venosa) riflettono direttamente l'attivazione piastrinica ed indicano un rilascio continuo di tale molecola all'interno del dializzatore.

La valutazione postdialitica ha mostrato una progressiva riduzione dei

livelli periferici di PDGF-AB, che peraltro ritornavano ai valori basali solo dopo 20 ore dal termine della sessione. Questo andamento postdialitico sembra riflettere: a) una persistente attivazione piastrinica (vedi oltre) che supera il termine della seduta dialitica; b) l'induzione (meccanismo a cascata) nelle cellule bersaglio di una ulteriore produzione di PDGF.

Per quanto riguarda le altre molecole studiate, sia i livelli periferici che la differenza artero-venosa di β TG, presentavano, durante la seduta emodialitica, un andamento analogo a quello del PDGF-AB, con un aumento nella prima fase della seduta, ed un nuovo e successivo picco al termine di essa. Per quanto riguarda il PF4, il picco iniziale osservato a 15 minuti può essere presumibilmente correlato al release di PF4 mediato dall'eparina dai siti di legame dell'eparina solfato presenti sulle cellule endoteliali (23). Questo evento sembra essere confermato dall' analogo incremento che abbiamo osservato 15 minuti dopo la somministrazione del bolo isolato di

eparina. Il minor aumento intradialitico di β TG e PF4, se paragonato al PDGF-AB, può essere indotto dal consumo di tali molecole nella neutralizzazione del potere anticoagulante dell'eparina; difatti, è ben noto che queste due molecole (ed in particolare il PF4) sono in grado di legare l'eparina.

Nel periodo post-dialitico i livelli plasmatici di β TG e PF4 si riducono più lentamente, rispetto al PDGF-AB, nelle 20 ore successive al termine della seduta. Questo diverso andamento può essere correlato sia alla loro maggiore emivita (100 e 13 minuti rispettivamente) (24) sia alla persistente attivazione piastrinica. Per quanto riguarda il PF4 è inoltre di estremo interesse la azione chemiotattica su neutrofili e monociti con un ulteriore danno a livello della parete vascolare (25).

I nostri risultati depongono pertanto per una attivazione piastrinica prolungata che può essere considerata la risultante di un fenomeno multifattoriale determinato principalmente da: 1) la presenza di piastrine giovani e più reattive; 2) il progressivo esaurimento dell'attività eparinica che comporta una ridotta neutralizzazione dei fattori attivati della cascata coagulativa.

Se la presenza di un rilascio intradialitico del PDGF-AB, principalmente dovuto all'interazione fra sangue e materiale artificiale, sembra evidente, rimangono tutte da precisare le possibili implicazioni cliniche.

L'aterosclerosi accelerata riveste una particolare importanza nei pazienti in dialisi rappresentando, in accordo con i vari registri nazionali, la causa più frequente di morte. L'importanza della patologia cardiovascolare emerge ormai non solo dalle valutazioni statistiche ma anche da studi clinici longitudinali che dimostrano la precocità e l'impatto della malattia aterosclerotica nei pazienti in terapia sostitutiva artificiale.

Di recente, Burdick et al (26) hanno dimostrato una correlazione significativa tra aterosclerosi caroti-

dea e età dialitica. Bommer ha riscontrato che l'aortosclerosi è estremamente comune in pazienti dializzati da più di cinque anni (27).

Nei pazienti in trattamento sostitutivo artificiale coesistono diversi fattori di rischio aterosclerotico, relativi sia all'uremia sia alla terapia dialitica, che possono accelerare le alterazioni vascolari: 1) l'iperparatiroidismo secondario; 2) le elevate concentrazioni di fattori protrombotici (fattore di Von Willebrand e fibrinogeno); 3) processi di tipo ossidativo ed infiammatorio; 4) iperomocisteinemia; 5) deficit di β lipoproteina lipasi dovuta all'impiego ciclico di eparina; 6) dislipidemia uremica; 7) lipoprotein(a) (28-33). Tuttavia, nessuna combinazione dei fattori di rischio sopra menzionati è riuscita a fornire una spiegazione convincente riguardo allo sviluppo e/o progressione dell'aterosclerosi accelerata fra i pazienti in dialisi. Riteniamo pertanto che possa essere utile, per una migliore comprensione di tale processo patologico, estendere la nostra attenzione agli effetti biologici dei fattori di crescita.

Numerosi studi sperimentali hanno recentemente confermato come il PDGF, possa rivestire un ruolo chiave nello sviluppo di lesioni aterosclerotiche (34, 35). Recentemente Caplice et al (36) hanno riscontrato che il PDGF-AB rilasciato nella circolazione coronarica dopo angioplastica promuove la proliferazione di cellule muscolari lisce *in vitro*. L'inibizione del recettore del PDGF mediante la CGP 53716 (un inibitore specifico della tirosina chinasi) previene la migrazione delle cellule muscolari lisce e la loro proliferazione sia *in vitro* sia in misura minore dopo angioplastica (37).

Il cospicuo release intradialitico del PDGF e il suo graduale ritorno a valori basali, sembra qualificarlo come uno dei possibili fattori di rischio cardiovascolare nei pazienti uremici. Il release intradialitico di PDGF potrebbe essere correlato, nel tempo e consensualmente ad

altri fattori di rischio aterosclerotico, con il progressivo peggioramento delle lesioni aterosclerotiche sia attraverso una azione diretta sulle cellule bersaglio (cellule muscolari lisce, macrofagi, cellule endoteliali) sia inducendo la produzione di PDGF in queste stesse cellule. Questa ipotesi può essere di particolare interesse se si considera la durata e la ciclicità del trattamento dialitico e il rilascio ciclico di PDGF.

Sono sicuramente necessarie ulteriori valutazioni del rilascio del PDGF-AB mediante studi prospettici sia utilizzando altri tipi di membrane artificiali sia altre tecniche dialitiche sia diverse metodiche di anticoagulazione. Infine una esatta definizione del ruolo del PDGF nella patologia aterosclerotica non potrà prescindere da un approfondimento delle complesse interazioni con altri fattori di crescita sia ad azione aterogena che antiaterogena.

BIBLIOGRAFIA

1. Raine AEG, Margreiter R, Brunner FP et al. Report on the management of renal failure in Europe. *Nephrol Dial Transplant* 1991; 2: 7-35.
2. Vincenti F, Amend WJ, Abele J, Feduska NJ, Salvatierra O Jr. The role of hypertension in haemodialysis-associated atherosclerosis. *Am J Med* 1980; 68 (3): 363-9.
3. Nishizawa Y, Shoji T, Kawagishi T, Morii H. Atherosclerosis in uremia: possible roles of hyperparathyroidism and intermediate lipoprotein accumulation. *Kidney Int* 1997; 62 (suppl): S90-2.
4. Attman PO, Alaupovic P, Gustafson A. Lipid and apolipoprotein profiles of uraemic dyslipoproteinaemia - relation to renal function and dialysis. *Nephron* 1993; 57: 401-10.
5. Bagdade JD. Hyperlipidemia and atherosclerosis in chronic dialysis patients. In: Drikker W, Parsons FM and Maher JF, eds. *Replacement of renal function by dialysis*. Boston, MA: Nijhoff Publishers, 1983; 588.
6. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis, a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-9.
7. Rubin K, Hansson GK, Ronnstrand L et al. Induction of B-type receptors for platelet derived growth factor in vascular inflammation: possible implication for development of vascular proliferative lesions. *Lancet* 1988; 1: 1353-6.
8. Libby P, Warner SJC, Salomon RN, Birinyi LK. Production of platelet-derived growth factor like mitogen by smooth-muscle cells from human atheroma. *N Engl Med* 1988; 318: 1493-8.
9. Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell* 1986; 46: 155-69.
10. Berk B, Alexander RW, Brock TA, Gimbrone MA, Webb RC. Vasoconstriction: A new activity for platelet-derived growth factor. *Science* 1986; 232 (4746): 87-90.
11. Nelson PR, Yamamura S, Kent KC. Platelet-derived growth factor and extracellular matrix proteins provide a synergistic stimulus for human vascular smooth muscle cell migration. *J Vasc Surg* 1997; 26 (1): 104-12.
12. Kaplan KL, Owen J. Plasma levels of beta-thromboglobulin and platelet factor 4 as indexes of platelet activation *in vivo*. *Blood* 1981; 57: 199.
13. Feedman MD. Pharmacodynamics, clinical indications and adverse effects of heparin. *J Clin Pharmacol* 1992; 32 (7): 584-96.
14. Mohammad SF, Anderson WH, Smith JB, Chuang HY, Mason RG. Effects of heparin on platelet aggregation, release reaction and tromboxane A₂ production. *Am J Pathol* 1981; 104 (2): 132-41.
15. Andrassy K, Ritz E, Bommer J. Effects of hemodialysis on platelets. *Contrib Nephrol* 1987; 59: 26-34.
16. Mason RG, Kim SW, Andrade JD, Hakim RM. Blood surface interactions. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1980; 26: 603.
17. Coli L, De Sanctis LB, Feliciangeli G, et al. Dialysis membrane biocompatibility: effects on cellular elements. *Nephrol Dial Transplant* 1995, 10: 27-32.
18. Lindsay RM, Rourke JTB, Reid BD, et al. The role of heparin on platelet retention by acrylonitrile co-polymer dialysis membranes. *J Lab Clin Med* 1977; 89: 4.
19. Windus DW, Atkinson R, Santoro S. The effects of hemodialysis on platelet activation with new and reprocessed regenerated cellulose dialyzers. *Am J Kidney Dis* 1996; 27 (3): 387-93.
20. Limber GK, Masau RG. Studies of protein elutable from certain surfaces exposed to human plasma. *Thromb Res* 1975; 6: 421-30.
21. Edmunds LH. Blood-surface interactions during cardiopulmonary by-pass. *J Cardiac Surg* 1993; 8: 404-10.
22. Boldt J, Zickmann B, Benson M, Dapper F, Hempelmann G, Schindler E. Does platelet size correlate with function in patients undergoing cardiac surgery? *Intens Care Med* 1993; 19 (1): 44-7.
23. Hoenich NA. Platelet and leucocyte behaviour during haemodialysis. *Contrib Nephrol* 1993; 19: 44-7.
24. Flicker W, Milthorpe BK, Scindheim K et al. Platelet factor release following heparin administration and during extracorporeal circulation. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1996; 28: 431-6.
25. Stemerman MB. Vascular injury: platelets and muscle cell response. *Phil Trans R Soc Lond* 1981; 294: 217-24.
26. Burdick L, Periti M, Salvaggio A, et al. Relation between carotid artery atherosclerosis and time on dialysis. A non invasive study *in vivo*. *Clin Nephrol* 1994; 42 (2): 121-6.
27. Bommer J, Strhobeck E, Goerich J, Bahner M, Zuna I. Arteriosclerosis in dialysis patients. *Int J Artif Organs* 1996; 19 (11): 638-44.
28. Haaber AB, Eidemak I, Jensen T, Feldt-Rasmussen B, Strandgaard S. Vascular endothelial cell function and cardiovascular risk factors in patients with chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1995; 5(8): 1581-4.
29. Maggi E, Bellazzi R, Falaschi F, et al. Enhanced LDL oxidation in uremic patients: and additional mechanism for accelerated atherosclerosis? *Kidney Int* 1994; 45 (3): 876-83.
30. Witzum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipopro-

tein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88: 1785-92.

31. Chauveau P, Chadeaux B, Coude M, et al. Hyperhomocysteinemia, a risk factor for atherosclerosis in chronic uremic patients. *Kidney Int* 1993; 41 (suppl): S72-7.
32. Teraoka J, Matsui N, Nakagawa S, Takeuchi J. The role of heparin in the changes of lipid pattern during a single hemodialysis. *Clin Nephrol* 1985; 18: 135.
33. Kronenberg F, Kathrein H, Konig P, et al. Apolipoprotein(a) phenotypes predict the risk for carotid atherosclerosis in patients with end-stage renal disease. *Arterioscler Thromb* 1994; 14 (9): 1405-11.
34. Maturri L, Cazzullo A, Turconi P, Lavezzi AM. Cytogenetic aspects of cell proliferation in atherosclerosis plaques. *Cardiologia* 1997; 42 (8): 883-6.
35. Graf K, Xi XP, Yang D, Fleck E, Hsueh WA, Law RE. Mitogen-activated protein kinase activation is involved in platelet-derived growth factor-directed migration by vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1997; 29: 334-9.
36. Caplice NM, Aroney CN, Bett JH, et al. Growth factors release into the coronary circulation after vascular injury promote proliferation of human vascular smooth muscle cells in culture. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29 (7): 1536-41.
37. Myllarniemi M, Calderoni L, Lemstrom K, Buchdunger E, Hayry P. Inhibition of platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinase inhibits vascular smooth muscle cells migration and proliferation. *FASEB J* 1997; 11 (13): 1119-26.