

Attuali prospettive terapeutiche nel trattamento delle complicanze emorragiche nei pazienti uremici in trattamento dialitico: ruolo della terapia con estrogeni coniugati e loro effetti sulle interazioni piastrine-endotelio mediate da riespressione delle integrine di superficie sulla membrana piastrinica

F. Salvati¹, M. Liani²

¹*Divisione di medicina generale e servizio di nefrologia ed emodialisi struttura ospedaliera di Guardiagrele-presidio ospedaliero di Chieti-Guardiagrele*

²*Modulo di Nefrologia ed Emodialisi - Ospedale San Massimo, Penne (Pescara)*

Nei pazienti affetti da insufficienza renale cronica è frequentemente presente una diatesi emorragica con tendenza al sanguinamento e talora complicanze cliniche quali ecchimosi, epistassi, stitilicidio ematico nei siti di venipuntura, emorragie gastrointestinali, ematomi subdurali, emopericardio, ecc. La etiopatogenesi del deficit emocoagulativo nella uremia è da ascrivere principalmente a difetto della emostasi primaria, ed in particolare, ad anomalie della funzione piastrinica e delle interazioni piastrine-endotelio (1-3). Tra i difetti dell'attività piastrinica riportati in letteratura ricordiamo la riduzione del contenuto di ADP e serotonina, l'alterazione del contenuto dei granuli densi, l'alterato rilascio

di alfa-granuli e beta-tromboglobulina, l'anomala mobilizzazione del Ca⁺⁺ piastrinico, l'alterato metabolismo dell'acido arachidonico, il deficit dell'attività cicloossigenasica, l'effetto di tossine uremiche come il paratormone, la stessa anemia con riduzione della massa eritrocitaria circolante. A ciò contribuiscono l'impatto negativo di tossine uremiche come il paratormone e gli effetti della stessa anemia con riduzione della massa eritrocitaria circolante. Risultato di tale anomala funzione piastrinica è il deficit di adesione ed aggregazione. Recenti lavori hanno evidenziato nei pazienti uremici difetti recettoriali della membrana piastrinica ed in particolare delle glicoproteine GPIb (il recettore per il fattore von Wille-

brand) e GPIIb/IIIa (recettore per il fibrinogeno) (4-7).

Tali recettori svolgono un ruolo chiave nei meccanismi di adesione ed aggregazione piastrinica e nelle interazioni piastrine-endotelio. Quando la matrice subendoteliale (che contiene grandi quantità di multimeri di fattore von Willebrand) viene esposta ad elevato flusso turbolento con aumentato stress tangenziale (shear stress) le piastrine inizialmente aderiscono tramite la interazione tra il fattore von Willebrand ed il suo recettore, la glicoproteina GPIb. Successivamente, in maniera analoga l'aggregazione piastrinica è determinata dal legame "a ponte" del fibrinogeno che lega due piastrine adiacenti tramite due recet-

tori superficiali di membrana GPIIb/IIIa. Vi sono in natura due rare patologie emorragiche congenite caratterizzate da deficit di tali recettori piastrinici: nella tromboastenia di Glanzmann vi è un deficit della glicoproteina GPIIb/IIIa e nella sindrome di Bernard-Soulier è carente l'espressione sulla membrana piastrinica del recettore per il fattore von Willebrand GPIb. Come già detto, diversi Autori hanno dimostrato un chiaro difetto quantitativo del recettore GPIb sulla membrana delle piastrine dei pazienti uremici; la carenza di tale recettore sarebbe inoltre associata ad una alterazione funzionale della glicoproteina GPIIb/IIIa che andrebbe incontro durante la sua attivazione ad un anomalo stato conformazionale con alterato impatto sul meccanismo di aggregazione (8). Tali anomalie potrebbero essere responsabili di tutta l'alterazione della bilancia emostatica nell'uremia, compresa la tendenza all'accelerata aterosclerosi, dal momento che la patologia aterotrombotica è strettamente collegata alla fisiopatologia dell'adesione ed aggregazione piastrinica. L'importanza dei recettori piastrinici di superficie GPIb e GPIIb/IIIa è stata recentemente evidenziata in importanti trials clinici come gli studi EPIC, EPILOG, CAPTURE, IMPACTII (9-12), in cui l'inibizione farmacologica della glicoproteina GPIIb/IIIa ha comportato netta riduzione delle complicanze trombotiche post-angioplastica (restenosi) e nell'angina instabile. I nuovi e futuri farmaci antitrombotici saranno prevalentemente antagonisti recettoriali di queste glicoproteine (abciximab, tirofiban, eptifibatide per via endovenosa, xemilofiban e lefradafiban attivi per via orale) (13, 14). In un recente lavoro la maggiore incidenza di complicanze aterotrombotiche della fistola artero-venosa in alcuni pazienti emodializzati è stata correlata ad alterata espressione delle glicoproteine recettoriali di superficie GPIb e GPIIb/IIIa (15). Anche la migliore bilancia emostatica presente nei pazienti uremici in dialisi peritoneale sembra essere secondaria a parziale normalizzazione dell'assetto recettoriale piastrinico per una probabile migliore depurazione da parte della membrana biologica peritoneale di tossine uremiche che interferiscono sul legame recettore - ligando (16). La terapia delle complicanze emorragiche nei pazienti uremici si basa su diversi approcci strategici (17). In primo luogo

un'adeguata condotta dialitica e la somministrazione di opportuna dose dialitica sono in grado di migliorare in alcuni pazienti almeno in parte la tendenza al sanguinamento e le relative complicanze. Ovviamente la dialisi peritoneale, laddove praticabile, evita i rischi legati all'uso di eparina ed anticoagulanti ed antiaggreganti piastrinici. I pazienti uremici risultano spesso gravemente anemici in particolare per la nota carenza di eritropoietina endogena: la correzione dell'anemia con eritropoietina umana ricombinante (rHu-EPO) produce significativi benefici ed il progressivo aumento dell'ematocrito si accompagna ad una significativa riduzione del tempo di sanguinamento, in quanto l'incremento della massa eritrocitaria circolante migliora l'interazione piastrine-endotelio. Inoltre la terapia con rHu-EPO aumenta l'espressione recettoriale sulla superficie piastrinica della glicoproteina GPIb (18). La terapia con crioprecipitato per infusione endovenosa è in grado di correggere rapidamente il sanguinamento di pazienti uremici con complicanze emorragiche: il suo meccanismo di azione sarebbe quello di aumentare i livelli sierici di fattore von Willebrand (vWF) circolante, essendo il crioprecipitato stesso una fonte diretta dello stesso vWF (19). L'uso del crioprecipitato è peraltro limitato dal rischio comune a tutti gli emoderivati estrattivi di infezioni trasmissibili. La Deamino-8-D-Arginina-Vasopressina (DDAVP) è anche un utile presidio terapeutico nel sanguinamento uremico. Il suo meccanismo di azione è duplice: stimolazione del rilascio di vWF dalle cellule endoteliali ed aumento di espressione della glicoproteina GPIb sulla superficie della membrana piastrinica (20). Gli estrogeni coniugati sono utilizzati da diversi anni come farmaco antiemorragico anche nella terapia del sanguinamento uremico: come meccanismo di azione è stata ipotizzata la riduzione dei livelli di ossido nitrico antagonizzandone la sintesi (21, 22).

Materiali e metodi

Alla luce delle nuove conoscenze sui meccanismi di adesione ed aggregazione piastrinica nei quali un ruolo fondamentale viene giocato dalle glicoproteine recettoriali piastriniche GPIb e GPIIb/IIIa, il nostro gruppo ha studiato l'eventuale impatto della terapia con estrogeni co-

niugati sull'espressione dei recettori di superficie piastrinici.

Infatti alcuni farmaci hanno un chiaro effetto su tali molecole recettoriali: rHu-EPO e DDAVP aumentano l'espressione dei recettori GPIb e GPIIb/IIIa (18, 20), altri come i trombolitici (23) ed il fish-oil (PUFA-Omega 3)(24) la riducono o tramite degradazione proteolitica, oppure per un aumento del pool citoplasmatico rispetto a quello di membrana con "interiorizzazione" delle stesse molecole glicoproteiche. Completando un iniziale studio preliminare (25) in quattro pazienti emodializzati con sanguinamento e complicanze emorragiche refrattarie ad ogni approccio farmacologico (DDAVP, crioprecipitato, estrogeni) (gruppo A) ed in dieci pazienti emodializzati senza problemi emocoagulativi (gruppo B) abbiamo determinato l'espressione dei recettori di superficie piastrinici GPIb e GPIIb/IIIa con anticorpi monoclonali CD42 e CD41 (Immunotech, Marsiglia, Francia) e citofluorimetria a flusso (citofluorimetro FACScan Becton-Dickinson, USA). Ai pazienti sono stati somministrati 0.6 mg/kg di estrogeni coniugati alla fine della seduta dialitica e le determinazioni citofluorimetriche dell'espressione recettoriale delle glicoproteine GPIb e GPIIb/IIIa sono state effettuate in condizioni basali (pre-dialisi, senza terapia estrogenica), dopo 24 ore e dopo 48 ore dalla somministrazione del farmaco.

Risultati

I valori dell'espressione della glicoproteina recettoriale GPIb (Flusso Medio +/- DS) erano nel gruppo A: basali pre-dialisi = 27.9 ± 7.87 ; dopo 24 ore = 28.10 ± 6.58 (p=ns); dopo 48 ore = 28.98 ± 7.22 . Nel gruppo B: basali pre-dialisi = 33.02 ± 7.60 ; dopo 24 ore = 38.89 ± 11.92 (p<0.05); dopo 48 ore = 41.64 ± 13.07 (p<0.05). In controlli sani (n = 31) GPIb = 48.43 ± 9.96 . I valori dell'espressione della glicoproteina recettoriale GPIIb/IIIa (Flusso Medio \pm SD) erano nel gruppo A: basali pre-dialisi = 398 ± 45.32 ; dopo 24 ore = 419 ± 51.08 (p=ns); dopo 48 ore = 426 ± 55.14 (p=ns). Nel gruppo B: basali pre-dialisi = 415.31 ± 70.50 ; dopo 24 ore = 430 ± 50.31 (p=ns); dopo 48 ore = 439 ± 49.73 (p=ns). In controlli sani (n=31) valori basali = 382.7 ± 97.37 (Fig. 1).

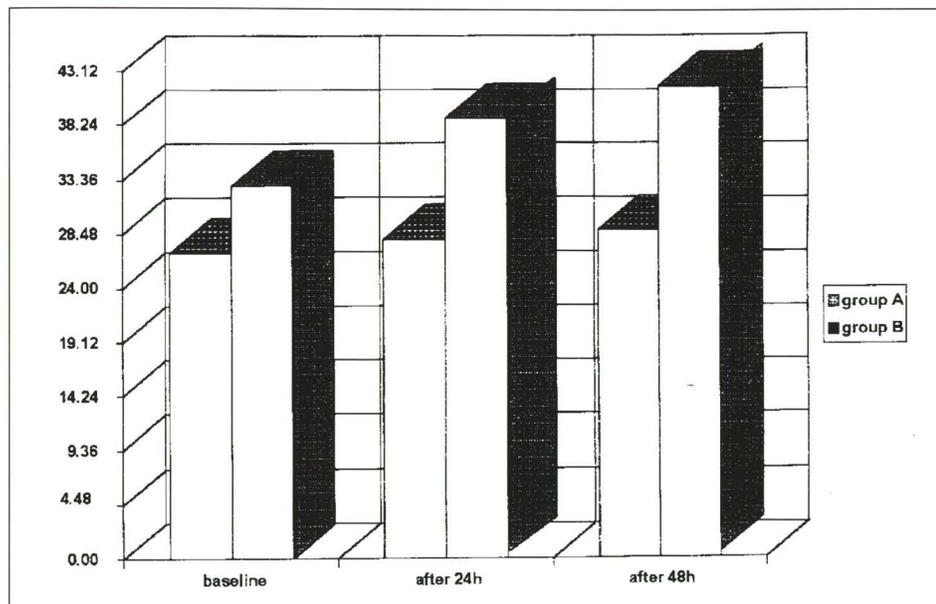


Fig. 1 - Valori dell'espressione della glicoproteina GPIIb (flusso medio \pm DS) in 4, pazienti emodializzati con sanguinamento e complicanze emorragiche (gruppo A) ed in 10 pazienti emodializzati senza complicanze emorragiche (gruppo B) prima e dopo 24 e 48 ore dalla infusione E.V. di 0.6 mg/kg di estrogeni coniugati.

Conclusioni

Nei pazienti uremici in trattamento emodialitico vi è una diminuzione di espressione recettoriale della glicoproteina GPIIb, il recettore per il fattore von Willebrand, punto chiave del meccanismo della adesione piastrinica. Il difetto emocoagulativo di tali pazienti potrebbe essere almeno in parte attribuito a tale alterato pattern recettoriale della membrana piastrinica. Vi è inoltre una sottopopolazione di pazienti uremici nei quali tale deficit recettoriale è particolarmente marcato; in tali pazienti le complicanze emorragiche e la tendenza al sanguinamento sono peraltro molto più evidenti. La quantificazione citofluorimetrica del difetto recettoriale coincide con il deficit di adesione piastrinica determinato con i metodi usuali. La terapia con estrogeni coniugati determina, nei pazienti uremici senza complicanze emorragiche e con assetto recettoriale meno compromesso, una ri-espressione sulla superficie della membrana piastrinica di tali molecole, che peraltro vengono anche degradate nel corso della seduta dialitica per il passaggio del sangue attraverso il filtro e le vie ematiche, analogamente a quanto succede in corso di circolazione extracorporea. Nei pazienti uremici con grave compromissione emocoagulativa vi è un

difetto recettoriale della glicoproteina GPIIb molto più avanzato che ben si correla con le gravi complicanze emorragiche cliniche e l'alterata adesione piastrinica. In tali pazienti la terapia con estrogeni coniugati è incapace da sola di riequilibrare l'assetto recettoriale e l'alterata emostasi; pertanto in tali pazienti deve essere proposto un approccio terapeutico complesso con l'uso contemporaneo di estrogeni coniugati o per via endovenosa (per ottenere un effetto rapido) o per via transdermica (cerotto) per una terapia cronica, con l'aggiunta di DDAVP per via nasale o infusione e crio-precipitato per via endovenosa in caso di gravi emorragie o di interventi chirurgici. Analogamente deve essere bandito l'uso di farmaci che interferiscono con l'emostasi in senso peggiorativo, quali aspirina, antiaggreganti piastrinici, farmaci anti-infiammatori non steroidei (FANS). Nel caso di persistenza della tendenza emorragica è giustificato il passaggio dalla emodialisi extracorporea alla dialisi peritoneale.

BIBLIOGRAFIA

1. Watson AJ, Gimenez LF. The bleeding diathesis of uremia. *Semin Dial* 1991; 4: 86-93.
2. Di Minno G, Martinez J, McKean ML, DeLa Rosa J, Burke JF, Murphy S. Platelet dysfunction in uremia. Multifaceted defect partially corrected by dialysis. *Am J Med* 1985; 79: 552-9.
3. Livio E, Benigni A, Remuzzi G. Coagulation abnormalities in uremia. *Semin Nephrol* 1985; 5: 82-90.
4. Escolar G, Cases A, Bastida E, et al. Uraemic platelets have a functional defect affecting the interaction of von Willebrand Factor with glycoprotein IIb/IIIa: *Blood* 1990; 76: 1336-40.
5. Sloand EM, Sloand JA, Prodouze K, et al. Reduction of platelet glycoprotein Ib in uremia. *Br J Haematol* 1991; 77: 375-81.
6. Liani M, Salvati F, Golato M, Tresca E. Platelet glycoproteins GPIIb and GPIIb/IIIa abnormalities in uremia. *Nephron* 1996; 72: 716.
7. Gawaz MP, Dobos G, Spath M, et al. Impaired function of platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa in end stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5: 36-46.
8. Benigni A, Boccardo P, Galbusera M, et al. Reversible activation defect of the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex in patients with uremia. *Am J Kidney Dis* 1993; 22: 668-76.
9. The EPIC Investigators. Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high-risk coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1994; 330: 956-61.
10. Tcheng JE. Glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitors: putting the EPIC, IMPACT-II, RESTORE and EPILOG trials into perspective. *Am J Cardiol* 1996; 78 (suppl 3A): 35-40.

11. The CAPTURE Investigators. Randomised placebo-controlled trial of abciximab before and during coronary intervention in refractory unstable angina. The CAPTURE Study. *Lancet* 1997; 349: 1429-35.
12. The Impact II Investigators. Randomised placebo-controlled trial of effect of eptifibatid on complications of percutaneous coronary intervention: IMPACT-II. *Lancet* 1997; 349: 1422-8.
13. Kereiakes DJ, Runyon JP, Kleiman NS, et al. Differential dose-response to oral xemilofiban after antecedent intra venous abciximab. Administration for complex coronary intervention. *Circulation* 1996; 94: 906-10.
14. Verheugt FW. In search of a superaspirin for the heart. *Lancet* 1997; 349: 1409-10.
15. Liani M, Salvati F, Tresca E, et al. Arteriovenous fistula obstruction and expression of platelet receptors for von Willebrand Factor and for fibrinogen (glycoproteins GPIb and GPIIb/IIIa) in hemodialysis patients. *Int J Artif Organs* 1996;19: 451-4.
16. Liani M, Salvati F, Tresca E, et al. Bleeding diathesis in uremic patients treated with peritoneal dialysis: role of glycoproteins GPIb and GPIIb/IIIa abnormalities. *Nephron* 1996; 74: 234.
17. Sloand JA. Long term therapy for uremic bleeding. *Int J Artif Organs* 1996; 19: 439-40.
18. Liani M, Salvati F, Nubile G, Tresca E, Velussi C, Midrio M. Von Willebrand Factor and rise in ristocetin co-factor with erythropoietin. *Lancet* 1993; 341: 1221.
19. Janson PA, Jubeliler SJ, Weinstein MS, Deykin D. Treatment of bleeding tendency in uremia with cryoprecipitate. *N Engl J Med* 1980; 303: 1318-22.
20. Sloand EM, Kessler CM, Sloand JA, et al. DDAVP corrects the platelet dysfunction produced by cardiopulmonary by-pass, hemodialysis, and prolonged storage: Re-expression of GPIb on the platelet membrane. New York: Plenum Press, *Desmopressin in Bleeding Dis* 1993; 147-54.
21. Viganó G, Gaspari F, Locatelli M, Pusineri F, Bonati M, Remuzzi G. Dose-effect and pharmacokinetics of estrogens given to correct bleeding time in uremia. *Kidney Int* 1988; 34: 853-8.
22. Zoya C, Noris M, Corna D, et al. L-Arginine, the precursor of nitric oxide, abolishes the effect of estrogens on bleeding time in experimental uremia. *Lab Invest* 1991; 65: 479-83.
23. Hoffmann JJML, Janssen WCM. Interactions between thrombolytic agents and platelets: effects of plasmin on platelet glycoproteins Ib and IIb/IIIa. *Thrombosis Research* 1992; 67: 711-9.
24. Liani M, Tresca E, Nubile G, Salvati F, Trolliet P, Cahen R. Effects of dietary manipulation with Fish-Oil on platelet receptors for von Willebrand Factor and Fibrinogen in Patients with end-stage renal failure. *Nephron* 1995; 69: 170.
25. Salvati F, Liani M, Golato M. Long term therapy for uremic bleeding: effects of conjugate estrogens on the expression of platelet surface receptors for von Willebrand Factor and fibrinogen (GPIb and GPIIb/IIIa glycoproteins). *Int J Artif Organs* 1997; 20: 184-5.

