

# Aumentata esposizione di fosfatidilserina negli eritrociti uremici

V. Sirolli<sup>1</sup>, N. Settefrati<sup>1</sup>, S. Dottori<sup>2</sup>, S. Di Stante<sup>1</sup>, A. Arduini<sup>2</sup>, M. Bonomini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto di Clinica Nefrologica, Università "G. D'Annunzio", Chieti

<sup>2</sup> Dipartimento Metabolismo ed Endocrinologia, Sigma-Tau, Pomezia, Roma

## Riassunto

**Premesse.** L'esposizione di fosfatidilserina (PS), un aminofosfolipide normalmente situato nello strato più interno della membrana plasmatica, sulla superficie esterna della membrana eritrocitaria può avere numerose implicazioni fisiopatologiche, tra cui la rimozione degli eritrociti da parte dei macrofagi.

**Metodi.** Nel presente studio abbiamo esaminato l'esposizione eritrocitaria di PS nei pazienti con insufficienza renale cronica (IRC) in trattamento conservativo o dialitico (HD, CAPD), per valutare possibili alterazioni della asimmetria fosfolipidica in una condizione caratterizzata da uno stato di alterata funzione e ridotta sopravvivenza della cellula eritrocitaria. La PS presente sulla superficie esterna della membrana eritrocitaria è stata identificata mediante metodiche citofluorimetriche basate sull'uso dell'annexina V FITC-coniugata. Per valutare se l'IRC si associa ad un fattore plasmatico in grado di influenzare l'esposizione di PS, gli eritrociti di soggetti normali sono stati risospesi nel plasma di pazienti in HD, mentre gli eritrociti di pazienti emodializzati sono stati risospesi in plasma di soggetti normali. I risultati delle incubazioni crociate sono stati confrontati con quelli ottenuti in incubazioni autologhe.

**Risultati.** Un significativo aumento ( $p < 0.001$ ) nella percentuale di eritrociti esprimenti PS è stato riscontrato in ciascun gruppo di pazienti uremici rispetto ai soggetti normali; la differenza tra CAPD ed HD era statisticamente significativa ( $p < 0.05$ ). Una correlazione diretta altamente significativa è stata riscontrata tra eritrociti PS-positivi e creatininemia nell'IRC in terapia conservativa. *In vitro*, gli eritrociti dei soggetti normali esprimevano aumentati livelli di cellule PS-positive quando incubati nel plasma uremico in confronto al plasma autologo. Gli eritrociti uremici hanno mostrato una progressiva riduzione nella percentuale di cellule PS-positive quando incubati nel plasma normale in confronto a quello autologo. L'aumentata esposizione superficiale di PS potrebbe essere legata ad una inibizione dell'enzima che normalmente mantiene il fosfolipide nel versante interno della membrana eritrocitaria.

**Conclusioni.** Una alterazione nella asimmetria fosfolipidica della membrana eritrocitaria è presente nei pazienti con IRC, sembra essere correlata allo stato uremico e può contribuire alla patologia eritrocitaria che si riscontra nell'IRC.

**PAROLE CHIAVE:** Annexina V, Eritrocita, Citofluorimetria, Fosfatidilserina, Uremia

## Increased exposure of phosphatidylserine in uremic erythrocytes

**Background.** The appearance of phosphatidylserine (PS), an aminophospholipid normally confined to the inner monolayer on the outer aspect of the erythrocyte membrane, may have several pathophysiologic implications.

**Methods.** In the present study we investigated the erythrocyte PS exposure in chronic renal failure (CRF) patients on conservative or substitutive (HD, CAPD) treatment. A flow-cytometric assay based on the use of annexin V was used to identify PS exposure in erythrocytes. To examine whether CRF is associated with plasma factor(s) affecting the exposure of PS, reconstitution experiments were performed with normal or uremic red blood cells (RBC) resuspended in plasma.

**Results.** A significant increase ( $p < 0.001$ ) in PS-expressing erythrocytes was found in each group of uremic patients compared to controls; the increase in was higher HD patients ( $p < 0.05$ ) than in CAPD. In CRF patients a strong correlation was found between the percentage of PS-expressing RBC and the serum creatinine concentration. During incubation in normal plasma, uremic erythrocytes showed a decrease in the percentage of PS-positive cells as compared to incubation

---

*in autologous plasma. Also, erythrocytes from normal subjects showed a significant increase in PS-positive cells when incubated in uremic plasma as compared to normal plasma. The increased exposure of PS at the extracellular aspect of the RBC membrane may be due to inhibition of PS transport from the outer to the inner leaflet of the RBC plasma membrane.*

**Conclusions.** *Our data indicate an increase in erythrocyte PS exposure in CRF, a state of deranged cell function, which seems related to the uremic state and which could contribute to the red cell pathology of this disorder. (Giorn It Nefrol 2000; 17: 255-62)*

**KEY WORDS:** *Annexin V, Erythrocyte, Flow cytometry, Phosphatidylserine, Uremia*

---