

Efectos de la biocompatibilidad de las membranas sobre la función plaquetaria

A. Martín-Malo, F. Velasco, D. Castillo, E. Andrés, R. Pérez, A. Torres y P. Aljama
Hospital Regional Reina Sofía. Córdoba.

RESUMEN

La interacción de la sangre con las membranas de diálisis induce activación plaquetaria. Al no modificarse con la anticoagulación sistémica, la betatromboglobulina (BTG) constituye un excelente parámetro para cuantificar dicha activación durante la diálisis. En este trabajo se han comparado los niveles plasmáticos de BTG con otro marcador bien establecido de biocompatibilidad, como es el grado de leucopenia inducido por la diálisis. Se estudiaron 10 pacientes con insuficiencia renal crónica en programa de hemodiálisis que fueron tratados secuencialmente con tres tipos diferentes de membranas: cuprofán (CU), etilen-vinil-alcohol (EVAL) y poliacrilonitrilo (AN-69). Se determinaron las concentraciones de BTG y neutrófilos a los cero, quince y sesenta minutos en la línea arterial y a los quince minutos en la línea venosa. Con membranas de CU se observó un descenso de los neutrófilos a los quince minutos (19 % del valor inicial), que coincidió con un incremento de la concentración de BTG ($\Delta + 11\%$; $p < 0,005$). Con EVAL se obtuvo un descenso moderado de los neutrófilos (59 % del basal, $p < 0,05$) y un ascenso de la BTG ($\Delta + 8\%$; $p < 0,05$). Con AN-69 no se objetivaron modificaciones significativas de los neutrófilos ni variaciones de los niveles de BTG (+3 %, NS). Se demostró una buena correlación entre descenso de los granulocitos e incremento de las cifras de BTG a los quince minutos de la diálisis en los pacientes tratados con CU ($r = -0,86$; $p < 0,01$) y EVAL ($r = -0,69$; $p < 0,05$). En conclusión, el grado de activación plaquetaria durante la hemodiálisis expresada por los niveles plasmáticos de BTG depende del tipo de membrana utilizada y constituye un excelente parámetro para evaluar la biocompatibilidad.

Palabras clave: **Betatromboglobulina. Biocompatibilidad. Función plaquetaria. Hemodiálisis.**

EFFECT OF MEMBRANE BIOCOMPATIBILITY ON PLATELET FUNCTION

SUMMARY

The interaction between blood and dialyser induces platelet activation resulting from deficient biocompatibility. Since systemic anticoagulation does not modify Beta-thromboglobulin (BTG) concentrations, this parameter is a reliable guide to platelet activity during hemodialysis (HD). We have therefore related the plasma BTG levels with another well known index of biocompatibility such as the neutrophil count changes during HD. We studied ten regular HD patients treated in sequence with cuprophan (CU), ethylene-vinyl-alcohol (EVAL) and polyacrylonitrile (AN-69) membrane dialysers. BTG plasma levels (RIA) and neutrophil counts were $p < 0.005$. EVAL induced a moderate leukopenia (59 %) and BTG rose slightly

Correspondencia: A. Martín-Malo.
Servicio de Nefrología.
Hospital Regional Reina Sofía.
Avda. Menéndez Pidal, s/n.
14004 Córdoba.

the starting value) which was associated with a significant increase in BTG (Δ 11 %; $p < 0.005$). EVAL induced a moderate leukopenia (59 %) and BTG rose slightly (Δ 8 %; $p < 0.05$). With AN-69 there were no significant changes in neutrophils and BTG concentrations remained stable (3 %; NS). Considering CU and EVAL data as a whole, the decrease in neutrophil counts correlated with the BTG rise ($r = -0.86$; $p < 0.001$). We conclude that the degree of platelet activation during HD estimated by plasma BTG levels depends on the type of dialyser membrane and constitutes a useful parameter for evaluating the biocompatibility.

Key words: **Beta-thromboglobulin. Biocompatibility. Hemodialysis. Platelet function.**

Introducción

Kaplow y Goffinet describieron en 1968 la aparición de una neutropenia intensa, precoz y transitoria en los primeros minutos de la diálisis¹. Este fenómeno ha sido ampliamente estudiado, pero sus mecanismos etiopatogénicos permanecen aún controvertidos^{2, 3}. Se ha observado que el descenso máximo de los granulocitos se produce entre los quince y los veinte minutos de iniciada la diálisis^{1, 4-6}. Esta neutropenia se asocia con un incremento notable de la adhesividad granulocitaria, normalizándose ambos parámetros a los sesenta minutos del comienzo de la sesión de hemodiálisis⁷⁻⁹. Estos resultados se han confirmado en estudios efectuados *in vitro* e *in vivo*^{8, 9}.

Se ha atribuido esta leucopenia a una activación de la vía alterna del sistema del complemento^{5, 10, 11}, con una generación de anafilotoxinas C3a y C5a¹¹⁻¹³, principalmente esta última, que parece jugar un papel primordial en la inducción de la neutropenia de la diálisis^{12, 14}. Las anafilotoxinas pueden provocar su efecto por una acción directa sobre los receptores de membrana de estas células^{15, 16}, incrementando la actividad quimiotáctica, la adhesividad y agregación granulocitarias^{13, 15}. A su vez, estos neutrófilos activados pueden estimular la actividad plaquetaria aumentando la producción de otros agentes quimiotácticos que favorezcan la capacidad agregante de los neutrófilos^{17, 18}.

Por otra parte, el contacto de la sangre con superficies extrañas estimula la actividad y agregación plaquetaria¹⁹. Se ha descrito aparición de trombopenia durante la diálisis²⁰, aunque estos resultados no han sido confirmados por otros autores^{21, 22}. Sreeharan y cols.²³ estudiaron la función plaquetaria en pacientes urémicos tratados con membranas de cuprofán y policarbonato, encontrando una buena correlación entre grado de trombopenia y alteración de la agregación plaquetaria, dependiendo de la composición biológica de la membrana utilizada²³. Es un hecho bien conocido que la activación del sistema de contacto, aparte de iniciar la cascada de la coagulación, pone en funcionamiento la estimulación de otros sistemas proteolíticos, como son la fibrinólisis,

la activación del sistema kalicreína-kinina y el del complemento²⁴. Sin embargo, la incidencia y severidad de estas alteraciones plaquetarias y sus posibles repercusiones sobre la producción de leucopenia por las membranas de diálisis permanece en debate^{2, 20}. La betatromboglobulina (BTG) es un excelente parámetro para valorar la actividad plaquetaria²⁵ y, además, tiene la peculiaridad de que sus concentraciones apenas se modifican por la anticoagulación sistémica con heparina²⁵.

El objetivo de este trabajo fue estudiar las variaciones de los niveles de BTG durante la diálisis y su posible interrelación con la neutropenia inducida por diferentes membranas con distinto grado de biocompatibilidad.

Material y métodos

Se estudiaron 10 pacientes con insuficiencia renal crónica en programa de hemodiálisis periódica. Se trataba de siete mujeres y tres hombres, con una edad media de 47,1 años, con un rango de variación que oscilaba entre dieciséis y sesenta y seis años. La estancia media en hemodiálisis era de $31,7 \pm 17,9$ meses. Estaban siendo rutinariamente dializados con membranas de cuprofán. Ningún paciente era diabético, su enfermedad de base no había cursado con síndrome nefrótico y no presentaban patología intercurrente. No estaban tomando ningún fármaco que pudiera alterar la función plaquetaria.

Todos los enfermos se dializaban tres veces por semana en sesiones de cuatro a cinco horas de duración. El flujo sanguíneo oscilaba entre 210 y 300 ml/min. El flujo del líquido de diálisis era de 500 ml/min. La temperatura durante la diálisis se mantenía entre 36 y 37° C. En todos los casos el acceso vascular fue una fístula arteriovenosa de Cimini-Brescia. Se utilizaron agujas revestidas de silicona (Terumo Corp.). La anticoagulación del paciente fue con heparina, según las necesidades de cada sujeto.

Todos los pacientes fueron tratados secuencialmente con tres diferentes tipos de membranas: cuprofán (Gambro Lundia Mayor 11,5 μ .), etilenvinilalcohol (EVAL, Kf 101) y poliacrilonitrilo (AN-69, Hos-

pal H12-10). Cada enfermo recibió siempre la misma dosis de heparina con las tres membranas utilizadas.

Las muestras sanguíneas fueron tomadas de la línea arterial después de haberse heparinado al enfermo: prediálisis (tiempo 0), a los quince y a los sesenta minutos del inicio de la diálisis. Se realizaron tomas de la línea venosa a los quince minutos. En cada tiempo se efectuó recuento de leucocitos y plaquetas y determinación de BTG.

La sangre extraída para cuantificación de BTG fue inmediatamente transferida a tubos de poliestireno previamente enfriados que contenían EDTA e inhibidores plaquetarios (Trombotec, Abbot). Después de agitar las muestras suavemente, se colocaban en un baño de hielo durante treinta minutos. Posteriormente se centrifugaba a 2.000 g. y a 4° C por un período de tiempo de quince minutos. A continuación, del plasma pobre en plaquetas resultante se tomaron 0,5 c.c. y se volvía a centrifugar de nuevo en las mismas condiciones descritas anteriormente. Esta muestra se almacenaba a -70° C hasta el momento de su análisis. La determinación de BTG fue realizada por RIA (The Radiochemical Center, Amersham, UK). Los datos fueron calculados utilizando un contador gamma con microprocesador. El recuento de leucocitos se hizo en un Coulter «S» y el cálculo de neutrófilos se realizó sobre 200 células.

Veinte sujetos sanos, 10 mujeres y 10 hombres, con edades comprendidas entre los veinticinco y los cuarenta y cinco años, sirvieron como controles.

Los análisis estadísticos empleados fueron la t de Student y la regresión lineal.

Resultados

Los niveles plasmáticos de BTG en los controles sanos eran $33,6 \pm 15$ ng/ml. Los pacientes con insuficiencia renal crónica presentaban unos valores prediálisis de BTG notablemente elevados con respecto a los controles ($133,8 \pm 51,2$ ng/ml.; $p < 0,001$), con un rango de variación que oscilaba entre los 77,2 y los 190 ng/ml.

Durante la diálisis con membranas de cuprofán se observó un descenso brusco de los granulocitos a los quince minutos del comienzo de la diálisis (19 % del valor inicial; $p < 0,001$). Esta neutropenia coincidió en el tiempo con un incremento sustancial de la concentración plasmática de BTG de $111,3 \pm 11,2$ a $123,8 \pm 12,6$ ng/ml. ($\Delta 10,75 \pm 2,2$; $p < 0,005$, fig. 1). Esta elevación era mayor en la línea venosa, pero sin llegar a alcanzar significación estadística con respecto a la arterial (fig. 1).

A los sesenta minutos el número de granulocitos se había normalizado. Sin embargo, los niveles de BTG permanecían aún elevados ($141,3 \pm 15,1$ ng/ml., fig. 1). Existía una excelente correlación entre descenso de granulocitos e incremento de BTG a los

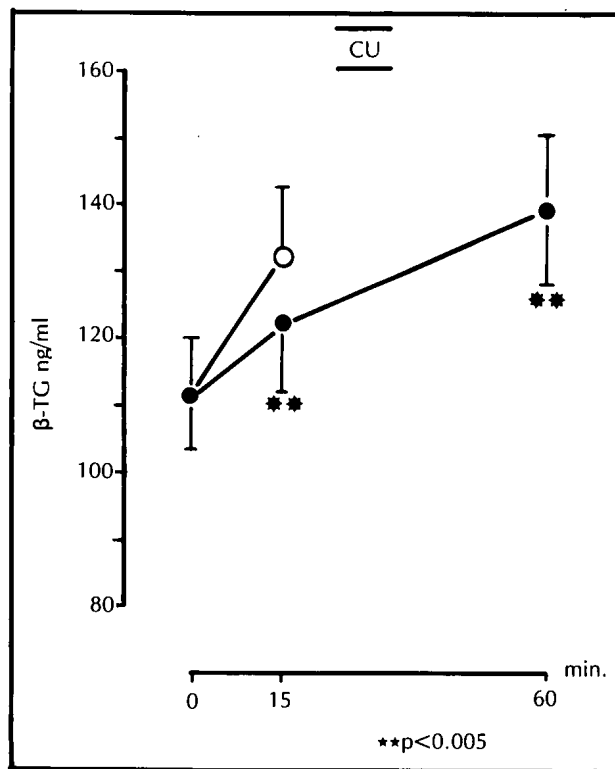


Fig. 1.—Variaciones de los niveles de BTG expresados en ng/ml. con membranas de cuprofán (CU). El trazo grueso representa las determinaciones en la línea arterial y el trazo fino las de la línea venosa. ** $p < 0,01$.

quince minutos con las membranas de cuprofán ($r = -0,86$; $p < 0,01$, fig. 2).

Cuando los mismos pacientes fueron dializados con membranas de EVAL se observó una disminución significativa de los neutrófilos a los quince minutos de la diálisis, pero de menor intensidad que la encontrada con cuprofán (59 % del valor inicial; $p < 0,01$). Simultáneamente se objetivó un aumento en la concentración plasmática de BTG de $102,5 \pm 8,1$ a $111,5 \pm 10,1$ ng/ml., que equivalía a un incremento porcentual del $8,3 \pm 3,4$ % ($p < 0,05$, fig. 3). La concentración de BTG era prácticamente idéntica en las líneas arterial y venosa (fig. 3).

A la hora se habían normalizado los granulocitos, pero persistían aún elevadas las cifras de BTG al compararlas con los valores basales ($p < 0,05$, fig. 3). No existían diferencias entre los quince y los sesenta minutos.

Con esta membrana también se encontró una buena correlación entre descenso de los neutrófilos e incremento de los niveles plasmáticos de BTG a los quince minutos del comienzo de la diálisis ($r = -0,69$; $p < 0,05$). Estos resultados se expresan gráficamente en la figura 4.

Estos mismos sujetos no presentaban modificaciones en el número de neutrófilos a los quince minutos

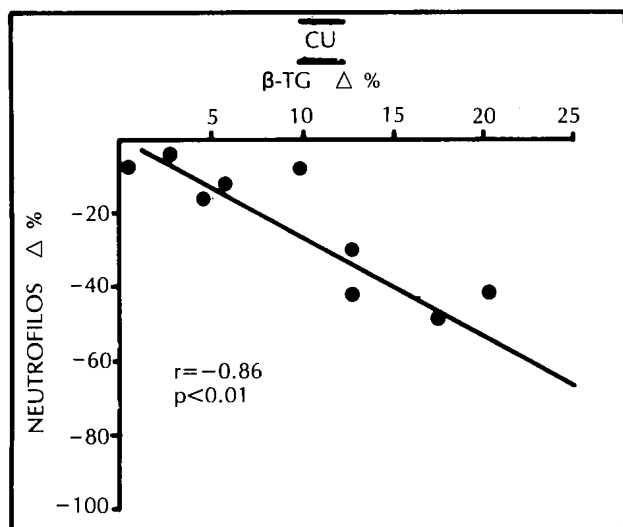


Fig. 2.—Correlación lineal entre descenso de granulocitos e incremento de la concentración plasmática de BTG con cuprofán (CU) a los quince minutos, expresados en porcentaje de cambios.

de la diálisis cuando se dializaban con AN-69 (98 % del valor basal). Tampoco se hallaron variaciones en la concentración de BTG en ese momento del estudio ($\Delta 3,1 \pm 1,1$ NS; fig. 5). En la línea venosa se detectó un descenso de los niveles plasmáticos de esta proteína que no fue estadísticamente significativo.

En la figura 6 se representan las variaciones porcentuales de los granulocitos y la BTG, respectivamente, con las tres membranas evaluadas, observándose una estrecha relación entre estos dos parámetros. Hay que destacar que a los sesenta minutos se objetivó un ascenso de las cifras de BTG con los tres tipos de dializadores (fig. 7), pero este incremento sólo fue estadísticamente significativo con CU y EVAL.

Las plaquetas descendieron con las membranas de cuprofán de 194.800 ± 70.600 a 167.200 ± 55.780 ($p < 0,05$). Con EVAL y AN-69 permanecieron constantes a lo largo del estudio.

Discusión

La BTG es una proteína tetramérica con un peso molecular de aproximadamente 35.800 daltons²⁶ que es secretada por los alfa-granúlos de las plaquetas cuando se produce una activación plaquetaria²⁵. Se han descrito valores elevados de BTG en pacientes con insuficiencia renal crónica, diabetes mellitus, infarto de miocardio, síndrome nefrótico, etc.^{22, 27, 28}. El incremento de los niveles plasmáticos de BTG en la uremia se ha atribuido a la incidencia de múltiples factores, entre los que cabría destacar una disminución del catabolismo renal de esta proteína^{27, 28}. Se ha encontrado una buena correlación entre descenso

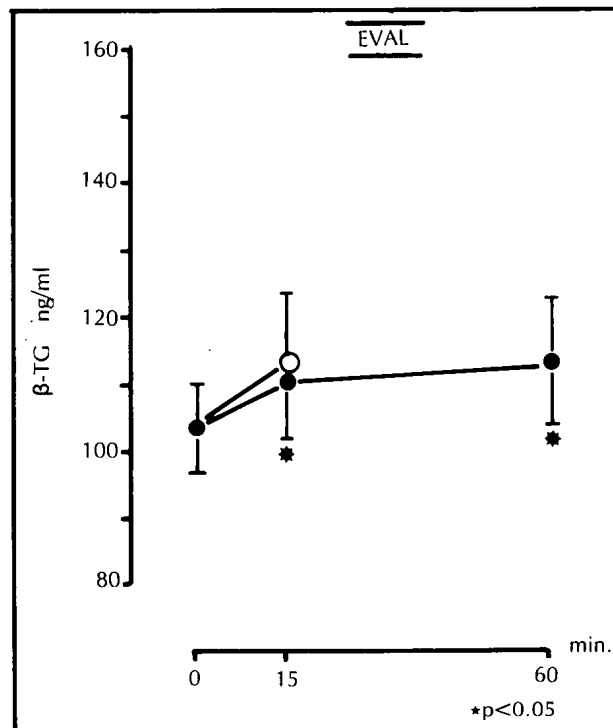


Fig. 3.—Valores plasmáticos de BTG en ng/ml. con membranas de etilen-vinil-alcohol (EVAL) en línea arterial (trazo grueso) y línea venosa (trazo fino) a los quince y sesenta minutos del inicio de la diálisis. * $p < 0,05$.

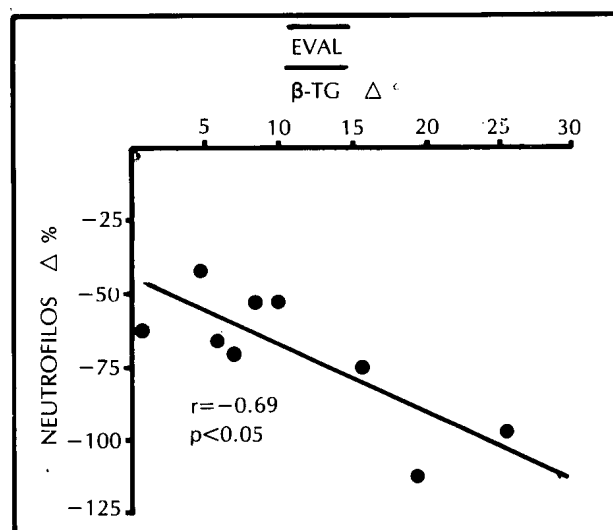


Fig. 4.—Gráfica de correlación lineal entre disminución de neutrófilos y elevación de BTG con etilen-vinil-alcohol (EVAL) en porcentaje de cambios a los quince minutos del comienzo de la sesión de hemodiálisis.

del aclaramiento de creatinina y aumento de la concentración plasmática de BTG²⁹. En todos los pacientes incluidos en este estudio existía una elevación de esta proteína prediálisis y este ascenso era muy significativo al compararlo con los controles.

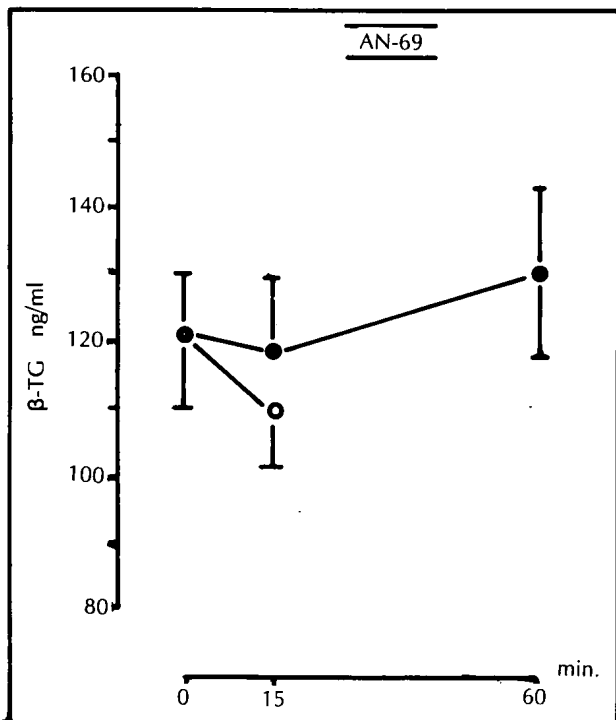


Fig. 5.—Niveles plasmáticos de BTG con AN-69 en ng/ml. en líneas arterial (trazo grueso) y venosa (trazo fino).

La existencia de una degranulación plaquetaria con liberación de factores intracelulares ha sido descrita durante la diálisis^{21, 30}. Varios autores han encontrado cifras elevadas de BTG en sujetos urémicos con diferentes tipos de tratamiento^{21, 22, 28, 30}. También se han publicado elevaciones de esta proteína durante la diálisis con membranas de cuprofán^{21, 30}. Sreen y cols.²² observaron que los enfermos urémicos tratados con diálisis peritoneal no presentaban modificaciones en los niveles plasmáticos de BTG. Sin embargo, los pacientes en hemodiálisis convencional tenían un incremento de esta proteína durante la diálisis²². Estos datos sugieren que el tipo de membrana utilizada puede jugar un papel primordial en el grado de activación plaquetaria representada por las variaciones de BTG intradiálisis²¹.

La BTG es un excelente parámetro para evaluar esta actividad plaquetaria durante la diálisis, ya que su concentración apenas se modifica con la heparinización sistémica²⁵. El factor plaquetario 4, que está también localizado en los alfa-gránulos y es un marcador de actividad plaquetaria²⁵, es de poca utilidad en los estudios de pacientes en hemodiálisis, ya que sus valores se alteran enormemente con la heparina²⁵. Por esta razón, en este trabajo se determinó únicamente la BTG. Aunque hubiese variaciones de los niveles de BTG con la heparina, no interferirían con nuestro estudio intradiálisis, ya que las muestras consideradas como basales, tiempo 0, se extrajeron con el paciente previamente heparinizado.

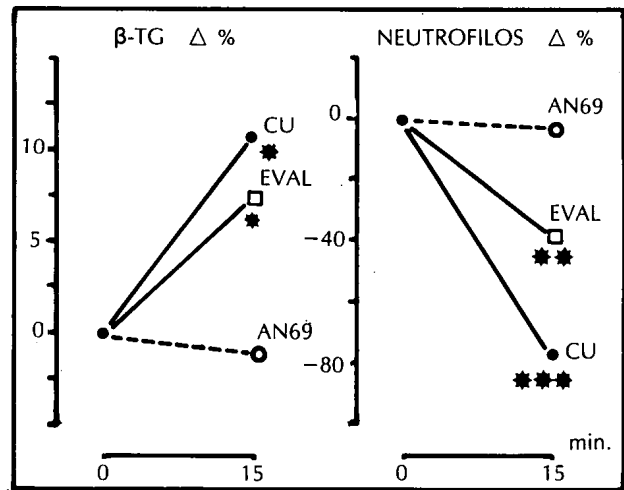


Fig. 6.—Cambios observados en el número de granulocitos y niveles plasmáticos de BTG a los quince minutos de la diálisis con las tres membranas: cuprofán (CU), etilen-vinil-alcohol (EVAL) y AN-69. Los valores se representan en porcentaje de cambios. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$.

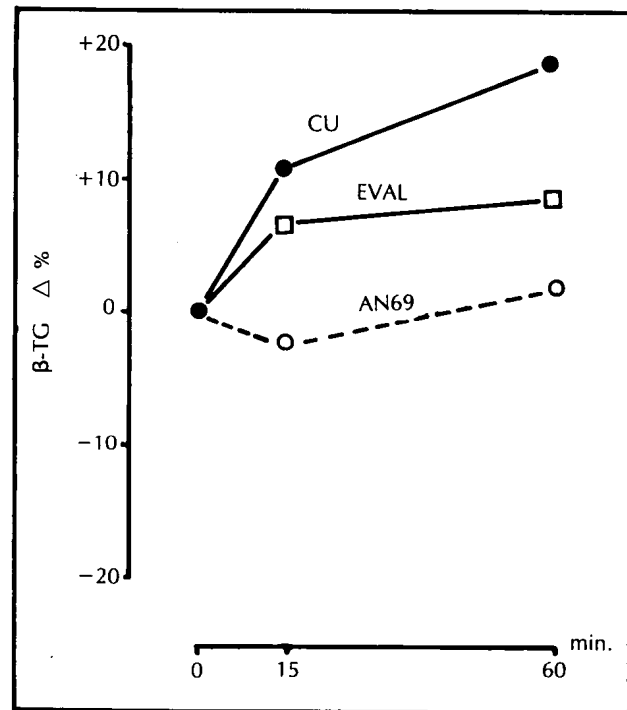


Fig. 7.—Variaciones porcentuales de las cifras de BTG a los quince y sesenta minutos con cuprofán (CU), etilen-vinil-alcohol (EVAL) y AN-69.

Adler y cols.³⁰ observaron un menor grado de agregación plaquetaria y niveles plasmáticos más bajos de BTG prediálisis en pacientes tratados con dializadores de poliacrilonitrilo a largo plazo en

comparación con individuos dializados con membranas de cuprofán o acetato de celulosa. Estos autores atribuían estos resultados a una menor estimulación de la actividad plaquetaria con membranas más biocompatibles.

Al ponerse en contacto la sangre con superficies extrañas se producen una serie de fenómenos biológicos escalonados que se pueden resumir brevemente en tres etapas: adsorción de las proteínas plasmáticas a estas superficies con cambios importantes de su estructura molecular, reacciones complejas que ponen en marcha el sistema de la coagulación y una activación de las plaquetas con fenómenos de agregación y liberación de factores intracelulares con gran actividad quimiotáctica^{2, 31}. Esta capacidad trombogénica de los diferentes materiales extraños, en nuestro caso las membranas de diálisis, viene en gran parte reflejado por las características fisicoquímicas de cada dializador. Se ha dado una gran importancia a la carga eléctrica de su superficie. Se pensaba que cuanto mayor era la carga negativa más biocompatible era la membrana³². Actualmente se considera más importante la existencia de una alta dispersión y un bajo grado de energía polar de la superficie como factores estructurales adecuados para alcanzar un buen nivel de biocompatibilidad³³. Aunque estos datos son válidos en el laboratorio, hay que tener en cuenta que la energía de estas superficies se calcula tomando como referencia clave el «ángulo de contacto», que durante la hemodiálisis no puede ser medido por la presencia de una capa de proteínas que cubre completamente la superficie de la membrana^{2, 34}. Realmente es la composición estructural de esta «segunda membrana» la que va a definir la biocompatibilidad del dializador. Estudios *in vitro* realizados por Falkenhagen y cols.³⁵ encontraron una estrecha relación entre disminución de leucocitos y agregación plaquetaria con la adsorción de proteínas a la membrana, utilizando como índice el fibrinógeno marcado con I-125. Por otra parte, cuando se han analizado mediante microscopio electrónico de barrido cortes seriados de membranas de cuprofán, en los primeros minutos de la diálisis se ha observado una interacción plaqueta-leucocito formando agregados mixtos sobre su superficie³⁶.

Recientemente, Hakim y cols.²⁰ han publicado la aparición de trombocitopenia transitoria en pacientes dializados con membranas de cuprofán asociada a una elevación del tromboxano B2, detectándose simultáneamente un incremento de los niveles de C3a des-Arg. Cuando los pacientes utilizaban dializadores de polimetilmetacrilato no se observaba trombocitopenia ni activación plaquetaria, con un ascenso menor de la concentración de C3a des-Arg; sugiriendo que la estimulación de la función plaquetar y la trombopenia estaban íntimamente relacionadas con la activación del complemento de una forma semejante a la leucopenia de la diálisis.

En nuestro estudio se encontró un notable incre-

mento en los niveles de PTG con el cuprofán a los quince minutos del inicio de la diálisis, coincidiendo con el máximo grado de neutropenia (fig. 6). Existiendo una relación inversa entre ambos parámetros ($r = -0,86$; fig. 2).

A los sesenta minutos, los granulocitos habían recuperado sus valores iniciales; sin embargo, las cifras de BTG permanecían aún en ascenso (figs. 1 y 7). Estos resultados probablemente puedan explicarse por un retraso en el catabolismo de la BTG al no eliminarse por las membranas de diálisis debido a su alto peso molecular²⁵. Hay que tener en cuenta que la vida media de esta proteína en los sujetos sanos con función renal normal es de aproximadamente unos cien minutos²⁵. Es lógico pensar que esta vida media esté muy alargada en los enfermos urémicos, ya que su principal vía catabólica es la renal.

Cuando se utilizaron membranas más biocompatibles (AN-69) no hubo neutropenia (fig. 6) y no se modificaron las concentraciones de BTG (figs. 5 y 7), esto es, no existía actividad plaquetaria. Con el EVAL se detectó un descenso importante de los granulocitos a los quince minutos, pero de menor intensidad que con el cuprofán (fig. 6). Simultáneamente en el tiempo se observó un incremento significativo de las cifras de BTG (fig. 3), que también era menor que el encontrado con el cuprofán (figs. 6 y 7). Esto es, cuando una membrana presentaba un ligero descenso de los neutrófilos, el incremento de los niveles de BTG era moderado. En todos los casos existía una buena correlación entre neutropenia y aumento de la actividad plaquetaria, representado por un incremento en los niveles plasmáticos de BTG (fig. 6).

Poley y cols.³⁷ han documentado la capacidad de ciertos componentes del sistema del complemento, específicamente los productos de la activación del C3, C3a y C3a des-Arg, para inducir agregación plaquetaria y liberación de serotonina en plaquetas humanas. Por otra parte, el zimósán, que activa la vía alterna del complemento, produce agregación y activación plaquetaria³⁸.

La activación del complemento, en concreto la generación de anafilotoxinas C5a y C5a des-Arg, se asocia con neutropenia y liberación de productos intragranulocitarios que pueden a su vez causar estimulación de la función plaquetaria^{17, 18}. A la inversa, la neutropenia puede ser secundaria a la activación de las plaquetas. Probablemente la estimulación de los granulocitos y plaquetas puede interrelacionarse mutuamente amplificando la acción del C5a sobre la inducción de la leucopenia.

Creemos que se puede concluir que la neutropenia de la diálisis está íntimamente correlacionada con la actividad plaquetaria, reflejado por las variaciones de la concentración de BTG. Por otra parte, los cambios producidos en los niveles de BTG intradiálisis constituyen un buen parámetro para valorar la compatibilidad de los diferentes materiales biológicos utilizados en la circulación extracorpórea.

Bibliografía

1. Kaplow LS y Goffinet JA: Profound neutropenia during the early phase of hemodialysis. *JAMA* 203:1135-1137, 1968.
2. Klinkmann M, Wolf H y Schmitt E: Definition of biocompatibility. *Contr Nephrol* 37:70-77, 1984.
3. Skubitz KM y Craddock PR: Reversal of hemodialysis granulocytopenia and pulmonary leukostasis. *J Clin Invest* 67:1383-1384, 1981.
4. Aljama P, Bird PAE, Ward MK, Feest TG, Walker W, Tamboga H, Sussman M y Kerr DNS: Hemodialysis induced leukopenia and activation of complement: effects of different membranes. *Proc EDTA* 15:144-153, 1978.
5. Craddock PR, Fehr J, Brigham KL, Kronenberg RS y Jacob HS: Complement and leukocyte-mediated pulmonary dysfunction in hemodialysis. *N Engl J Med* 296:769-774, 1977.
6. Aljama P, Garín JM, Torres A, Martín-Malo A, Moreno E y Pérez-Calderón R: Hemodialysis leukopenia as an index of membrane biocompatibility. *Contr Nephrol* 37:129-133, 1984.
7. McGregor RR: Granulocyte adherence changes induced by hemodialysis, endotoxin, epinephrine and glucocorticoids. *Ann Inter Med* 86:35-39, 1977.
9. Aljama P, Martín-Malo A, Pérez R, Castillo D, Torres A y Velasco F: Granulocyte adherence changes during hemodialysis. *Contr Nephrol* 46:75-82, 1985.
9. Guerrero I, Schreiber AD y McGregor RR: Studies of the plasma factors which induces augmented granulocyte adherence during hemodialysis. *Nephron* 27:79-83, 1981.
10. Jacob AI, Gavellas G, Zarco R, Pérez J y Bourgoigne JJ: Leukopenia, hypoxia and complement function with different hemodialysis membranes. *Kidney Int* 18:505-509, 1980.
11. Amadori A, Candy P, Sasdelli M, Massay G, Favilla S, Passaleva A y Ricci M: Hemodialysis leukopenia and complement function with different dialyzers. *Kidney Int* 24:775-781, 1983.
12. Chenoweth D, Cheung AM y Henderson LM: Anaphylatoxin formation during hemodialysis: effects of different dialyzer membranes. *Kidney Int* 24:764-769, 1983.
13. Ivanovich P, Chenoweth D, Schmidt E, Klinkmann H, Boxer LA, Jacob HS y Hammerschmidt DE: Symptoms and activation of granulocytes and complement with two dialysis membranes. *Kidney Int* 24:758-763, 1983.
14. Aljama P, Martín-Malo A, Castillo D, Velasco F, Torres A, Pérez R y Castro M: Anaphylatoxin C5a generation and dialysis-induced leukopenia with different hemodialyzer membranes. *Blood Purification* 4:88-92, 1986.
15. Chenoweth D y Goodman MG: The C5a receptors of neutrophils and macrophages. *Agents Actions* 12:252-273, 1983.
16. Chenoweth D, Goodman MG y Weigle WO: Demonstration of a specific receptor for human C5a anaphylatoxin on murine macrophages. *J Exp Med* 156:68-78, 1982.
17. Lotner GZ, Lynch JM, Betz SJ y Henson PM: Human neutrophil-derived platelet activating factor. *J Immunol* 124:676-684, 1980.
18. Stimler NP, Bloor CM, Hugli TE, Wykle RL, McCall CE y O'Flaherty JT: Anaphilactic actions of platelet-activating factor. *Am J Pathol* 105:64-69, 1981.
19. Levin RD, Kwaan HC e Ivanovich P: Changes in platelet function during hemodialysis. *J Lab Clin Med* 92:779-784, 1978.
20. Hakim RM y Schafer AI: Hemodialysis-associated platelet activation and thrombocytopenia. *Am J Med* 78:575-580, 1985.
21. Buccianti G, Pogliani E, Miradoli R, Colombi MA, Valenti G, Lorenz M y Polli E: Reduction of plasma levels of Beta-thromboglobulin and platelet factor 4 during hemodialysis: a possible role for a short acting inhibitor of platelet aggregation. *Clin Nephrol* 18:204-208, 1982.
22. Green D, Santhanam S, Krumlovsky FA y Del Greco F: Elevated Beta-thromboglobulin in patients with chronic renal failure: effects of hemodialysis. *J Lab Clin Med* 95:679-685, 1980.
23. Sreeharan N, Crow ML, Salter MCP, Donaldson DR, Rajah SM y Davison AM: Membrane effect on platelet function during hemodialysis: a comparison of cuprophane and polycarbonate. *Artif Organs* 6:324-327, 1982.
24. Colman RW: Surface-mediated defense reactions. The plasma contact activation system. *J Clin Invest* 73:1249-1253, 1984.
25. Dawes J, Smith RC y Pepper DS: The release, distribution and clearance of human Beta-thromboglobulin and platelet factor 4. *Tromb Res* 12:851-861, 1978.
26. Moore S, Pepper DS y Cash JD: The isolation and characterization of a platelet specific Beta-globulin (Beta-thromboglobulin) and the detection of antiurokinase and antiplasmin released from thrombin-aggregated washed human platelets. *Biochim Biophys Acta* 379:360-369, 1975.
27. Adler AJ, Lundin AP, Feinroth MV, Friedman EA y Berlyne GM: Beta-thromboglobulin levels in the nephrotic syndrome. *Am J Med* 69:551-554, 1980.
28. Akizawa T, Nishiyama H y Koshikawa S: Plasma Beta-thromboglobulin levels in chronic renal failure patients. *Artif Organs* 5:54-58, 1981.
29. Basti C, Berman I, Guzzo J, Musial J y Niewiarowski S: Renal handling of secreted platelets proteins with antiheparin activity. *Clin Res* 24:304-309, 1980.
30. Adler AJ y Berlyne GM: Beta-thromboglobulin and platelet factor 4 during hemodialysis with polyacrylonitrile. *Am Soc Artif Intern Organs* 4:100-102, 1981.
31. Bruck SD: Current activities and future directions in biomaterials research. *Ann NY Acad Sci* 283:332-355, 1977.
32. Ramasamy N y Sawyer PN: Interfacial reactions and thrombosis. *Bioelectrochemistry Bioenergetics* 4:137-154, 1977.
33. Sharma CP: Possible contributions of surface energy and interfacial parameters of synthetic polymers to blood compatibility. *Biomaterials* 2:57-59, 1981.
34. Mahiout A, Meinhold H, Kessel M, Schulze H y Baurmeister U: Dialyser membranes: effect of surface area and chemical modifications of cellulose on complement and platelet activation. *Artif Organs* 11:149-154, 1987.
35. Falkenhagen D, Esther G, Ahrenholz P, Holtz M, Schmitt E y Klinkmann H: Blood compatibility and efficiency of different hemoabsorbents. *Proc Eur Soc Artif Organs* 7:137, 1980.
36. Mioli VA, Tarchini R, Castelli P, Bordoni E, Bibiano L, Lombardo V, Sbarbati A, Balicchia C y Cinti S: Electron microscopy in biocompatibility study of the dialytic membranes. *Immune and Metabolic Aspects of Therapeutic Blood Purification Systems*, Ed. Karger 26-32, 1985.
37. Polley MJ y Nachman RL: Human platelet activation by C3a and C3a des-Arg. *J Exp Med* 159:603-615, 1983.
38. Zucker MB y Grant RA: Aggregation and release in human blood platelets by zymosan. *J Immunol* 112:1219-1230, 1974.