

## Eritropoyetina: efectos vasculares y hemostáticos en pacientes urémicos

Aleix Cases, Manuel Vera y Ginés Escolar\*.

### Resumen

El tratamiento con eritropoyetina recombinante humana (rhuEPO) ha demostrado su eficacia en el tratamiento de la anemia renal, pero no está exenta de efectos secundarios, tales como la hipertensión arterial y la trombosis. En esta revisión se ha analizado la evidencia clínica sobre los efectos del tratamiento con rhuEPO sobre la morbimortalidad cardiovascular y riesgo de trombosis en pacientes con insuficiencia renal crónica terminal, así como las evidencias clínicas y experimentales de los efectos de este tratamiento sobre la hemostasia y la vasculatura.

El tratamiento con rhuEPO no parece aumentar la morbimortalidad cardiovascular o el riesgo de complicaciones aterotrombóticas (salvo un riesgo aumentado de trombosis de accesos vasculares protésicos) en pacientes urémicos. El tratamiento con rhuEPO mejora la hemostasia primaria alterada que presentan los pacientes urémicos a través del aumento del hematocrito y, por ende, de la viscosidad sanguínea, además de mejorar la trombopatía que presentan estos pacientes. Sin embargo, el tratamiento con rhuEPO no parece agravar el estado de hipercoagulabilidad que presentan los pacientes urémicos. Aunque los efectos de la rhuEPO *in vitro* o en estudios experimentales sobre el endotelio y la fibra muscular lisa vascular son complejos y parecen favorecer el desarrollo de hipertensión y de complicaciones aterotrombóticas en estos

pacientes, los estudios *in vivo* no son concluyentes, y la experiencia clínica no parece abonar estos hechos, por lo que los efectos del tratamiento con rhuEPO y de la corrección de la anemia sobre la función endotelial en los pacientes urémicos merecerían ser objeto de estudios más exhaustivos.

**PALABRAS CLAVE:** eritropoyetina; insuficiencia renal crónica; coagulación; plaquetas; endotelio.

### Abstract

Recombinant human erythropoietin (rhuEPO) is effective in the treatment of the anemia of renal origin, although this treatment is not devoid of side effects, such as hypertension or thrombosis. The aim of this review is to analyze the clinical evidence on the effects of this treatment on cardiovascular morbidity and mortality and the risk of thrombosis, as well as the clinical and experimental evidences of the effects of rhuEPO on hemostasis and the vasculature in patients with chronic renal failure.

RhuEPO treatment does not increase cardiovascular morbidity and mortality or the risk of atherothrombotic complications (apart from an increased risk of thrombosis of prosthetic vascular accesses) in uremic patients. RhuEPO treatment improves the altered primary hemostasis in uremic patients. This improvement is due both to the increase in hematocrit and the correction of uremic thrombopathy. On the other hand, this treatment does not seem to further worsen the hypercoagulable state of uremia. *In vitro* and experimental studies indicate that the effects of rhuEPO on endothelium and vascular smooth muscle cells are complex and seem to favor the development of hypertension and atherothrombotic complications. However, *in vivo* studies are not conclusive and the clinical experience does not support these findings. Clinical studies evaluating the effects of rhuEPO treatment and improvement of anemia on endothelial and vascular function in uremic patients are needed.

**KEY WORDS:** erythropoietin; chronic renal failure; hemostasis; platelets; endothelium.

### Introducción

La introducción de la eritropoyetina recombinante humana (rhuEPO) en el tratamiento de la anemia de los enfermos con insuficiencia renal crónica ha constituido uno de

Servicios de Nefrología, Hemoterapia y Hemostasia. \*  
Hospital Clínic.  
Institut D'Investigacions Biomediques August Pi Sunyer.  
Barcelona.

### Correspondencia y solicitud de separatas:

Dr. Aleix Cases  
Servicio de Nefrología. Hospital Clínic i Provincial  
C/ Villarreal 170. 08036 Barcelona  
Teléfono: 93 227 54 47 • Fax: 93 227 54 44

Este trabajo ha sido subvencionado en parte con becas del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FISS 98/0550 y FISS 98/0321).

los hitos más importantes de la nefrología de los últimos años. Los primeros ensayos clínicos con rhuEPO en el tratamiento de la anemia de origen renal datan de 1985 (1) y demuestran de forma fehaciente su eficacia en la corrección de la anemia en estos pacientes, por lo que fue introducida definitivamente en la práctica clínica a partir de 1989. No obstante, ya desde un principio, se describió que el tratamiento con rhuEPO se asociaba con un riesgo aumentado de trombosis del acceso vascular (2-4). Poco después se demostró que el tratamiento con rhuEPO mejoraba el defecto hemostático de los pacientes urémicos (5) y los posibles mecanismos implicados han sido exhaustivamente investigados. Todo ello llevó a los nefrólogos a cuestionarse si la rhuEPO podía agravar todavía más el ya de por sí elevado riesgo cardiovascular, la causa principal de muerte en pacientes con insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) (6), y el riesgo de trombosis en estos pacientes.

El objetivo de este artículo es revisar la evidencia clínica del posible efecto del tratamiento con rhuEPO sobre la morbilidad cardiovascular y riesgo trombótico en pacientes urémicos, así como revisar los efectos hemostáticos y vasculares de este tratamiento.

## Evidencias clínicas

Las posibles manifestaciones clínicas de un riesgo trombótico aumentado durante el tratamiento con rhuEPO en pacientes urémicos pueden ser diversas: 1) un aumento de la incidencia de eventos cardiovasculares (enfermedad vascular cerebral, cardiopatía isquémica, enfermedad vascular periférica, etc); 2) un aumento del riesgo de trombosis del acceso vascular para hemodiálisis; y/o 3) un aumento de la incidencia de coagulación del circuito extracorpóreo y/o de las necesidades de heparina durante la hemodiálisis.

### Riesgo cardiovascular en pacientes urémicos tratados con rhuEPO

Cuando se analizan los efectos del tratamiento con rhuEPO sobre el riesgo cardiovascular en la uremia, debe considerarse que, además de los efectos hemostáticos y vasculares de la eritropoyetina, la corrección de la anemia *per se* implica importantes cambios hemodinámicos y estructurales sobre el sistema cardiovascular, cuya compleja interacción puede afectar positiva o negativamente el riesgo cardiovascular durante el tratamiento con esta hormona. Distintos estudios observacionales han demostrado que la anemia es un factor independiente de riesgo cardiovascular y de mortalidad en pacientes con IRCT (7-9). En un estudio prospectivo se objetivó que un descenso de 1 g/dL en los niveles de hemoglobina se asociaba con un aumento de riesgo de desarrollo de dilatación del ventrículo izquierdo, insuficiencia cardíaca y mortalidad tras ajustar por la edad, presencia de diabetes, cardiopatía isquémica, presión arterial y albúmina sérica (8). La anemia es también un factor de riesgo de desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda en la

IRC (10), la cual es a su vez un factor de riesgo de arritmias ventriculares y de muerte cardíaca en estos pacientes (11). Por todo ello, sería esperable que la corrección de la anemia con rhuEPO mejorara la supervivencia en estos pacientes, y especialmente redujera la mortalidad de origen cardíaco.

Los efectos cardiovasculares descritos durante el tratamiento con rhuEPO en pacientes con IRC incluyen un descenso del gasto cardíaco, un aumento de las resistencias vasculares sistémicas, una mejora de la contractilidad miocárdica y una reducción de los signos electrocardiográficos de isquemia (12). Por otro lado, el tratamiento con rhuEPO se relaciona con la aparición o agravamiento de hipertensión previa hasta en un tercio de los pacientes (13). Curiosamente, este efecto hipertensivo no se observa en los pacientes con función renal normal tratados con rhuEPO (14); lo que sugiere que la uremia es un factor favorecedor para el desarrollo de hipertensión en esta circunstancia.

Desde un punto de vista clínico se observa ya la existencia de efectos contrapuestos respecto al posible beneficio que para el sistema cardiovascular supone el tratamiento con rhuEPO en la uremia. En el aspecto positivo, la rhuEPO, al corregir la anemia, revierte parcialmente la hipertrofia ventricular izquierda (15, 16) y aumenta la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y la contractilidad miocárdica (17, 18); en el lado negativo, este tratamiento puede aumentar el riesgo cardiovascular al inducir un aumento de las cifras tensionales (13).

Los estudios retrospectivos publicados en la literatura sobre los efectos del tratamiento con rhuEPO sobre la morbilidad cardiovascular en la uremia son contradictorios. Así, mientras estudios retrospectivos europeos de cohortes demuestran una reducción de la morbilidad cardiovascular (19, 20), un estudio retrospectivo japonés ha descrito aumento de este riesgo (21), aunque la metodología empleada en este último estudio ha sido ampliamente criticada. En un estudio prospectivo, multicéntrico, de cohortes que incluyó 362 pacientes en hemodiálisis, de los cuales 181 sirvieron como controles durante el primer año y recibieron rhuEPO durante el segundo año, la mortalidad de origen cardíaco y la incidencia de eventos cardiovasculares severos fueron superiores en el grupo control que en el grupo tratado con rhuEPO (22). Un estudio de 5.302 pacientes del Registro de Diálisis y Transplante de Lombardia demostró que el tratamiento con rhuEPO se asociaba con una reducción del 35% del riesgo relativo de mortalidad tras ajustar por varios factores de riesgo cardiovascular (23). Un reciente metaanálisis de 22 estudios clínicos que incluía 3.697 pacientes también ha demostrado una reducción de la mortalidad del 20% durante el primer año de tratamiento con rhuEPO, a expensas de una reducción de la mortalidad cardiovascular; y este efecto positivo persistía tras el 2.º y 3.º año (24). Finalmente, Eschbach y cols. observaron una reducción de eventos cardiovasculares en un grupo de 55 pacientes tratados con rhuEPO durante más de tres años cuando se comparaban con los datos del registro americano (USRDS), lo que sugería que los efectos beneficiosos del

tratamiento con rhuEPO se mantenían con el tratamiento prolongado (25), aunque no se dispone de estudios controlados amplios y con un seguimiento prolongado que confirmen estos hallazgos.

### **Trombosis de los accesos vasculares y aumento de las necesidades de heparina**

El tratamiento con rhuEPO también se ha relacionado con un aumento de la incidencia de trombosis de accesos vasculares, aunque éste es un tema debatido (13), así como con un aumento de las necesidades de heparina durante las sesiones de hemodiálisis para evitar la coagulación del circuito extracorpóreo. Algunos estudios prospectivos no han observado un aumento de estenosis o trombosis del acceso vascular durante el tratamiento con rhuEPO (26), mientras otros han descrito que el tratamiento con esta hormona es un factor independiente para el desarrollo de trombosis del acceso vascular en pacientes hemodializados (27). A pesar de existir divergencias respecto al posible efecto protrombótico del tratamiento con rhuEPO en fístulas AV nativas, diversos estudios han demostrado que este tratamiento podría aumentar el riesgo de trombosis de prótesis vasculares de PTFE (25, 28-31), lo que sugiere que la rhuEPO incrementaría el riesgo de trombosis del acceso vascular en este subgrupo de pacientes de alto riesgo.

También se ha descrito un aumento de la formación de fibrina y coagulación del circuito extracorpóreo durante la hemodiálisis en pacientes tratados con rhuEPO (14, 32) cuando aumenta el hematocrito, que generalmente requieren aumentar las dosis de heparina durante el procedimiento (32-36). Sin embargo, ello no tiene por qué ser debido a un estado de hipercoagulabilidad, sino que es más probable que se deba al aumento de la viscosidad sanguínea por el aumento del hematocrito.

Podemos concluir, pues, que no existen datos clínicos suficientes que demuestren que el tratamiento con rhuEPO induce un estado protrombótico en pacientes con IRCT. De hecho, varios estudios han sugerido un efecto beneficioso sobre la mortalidad cardiovascular en pacientes urémicos tratados con esta hormona. Sin embargo, ello debería haber sido confirmado en estudios controlados amplios y debería también estudiarse el efecto de este tratamiento sobre el riesgo cardiovascular en pacientes urémicos de alto riesgo, como pacientes diabéticos, con insuficiencia cardíaca o enfermedad coronaria. En este sentido, un estudio retrospectivo reciente describió un aumento de la incidencia de enfermedad vascular periférica durante el tratamiento con rhuEPO en pacientes diabéticos tratados con diálisis peritoneal (37).

### **Efecto de la rhuEPO sobre la hemostasia**

Son varios los mecanismos postulados mediante los cuales la rhuEPO podría contribuir a un aumento de la tendencia protrombótica: un aumento de la masa eritrocitaria y

de la viscosidad sanguínea; aumento del recuento plaquetar, así como una mejoría de su función: aumento de los factores de la coagulación junto con una disminución de los inhibidores naturales de la coagulación; y una disminución de la actividad fibrinolítica del plasma, entre otros.

Moia y cols. describieron por primera vez que la corrección de la anemia con rhuEPO normalizaba el tiempo de sangría prolongado en la mayoría de pacientes urémicos y mejoraba la interacción plaqueta-subendotelio en estudios de perfusión *ex vivo* (5). En este y otros trabajos (38) el tiempo de sangría se relacionaba inversamente con los valores de hematocrito, sugiriendo que la anemia juega un papel clave en el defecto hemostático de la uremia. Estos estudios además confirmaban trabajos previos en los que se demostraba que el aumento del hematocrito mediante la administración de concentrados de hematíes acortaba el tiempo de sangría en pacientes urémicos (39, 40). Sin embargo, estudios posteriores demostraron que, aunque el tiempo de sangría se acortaba tras la corrección parcial de la anemia (hematocrito >30%), no todos los pacientes normalizaban el tiempo de sangría (41-43, 52), lo que sugería que otros factores estaban implicados en la diátesis hemorrágica de la uremia. Por otro lado, la agregación plaquetaria *in vitro* mejoraba en los pacientes tratados con rhuEPO (38, 41, 43), lo que no ocurría cuando el aumento del hematocrito era debido a la transfusión de hematíes (39, 40). Finalmente, la mejoría de la hemostasia primaria con rhuEPO en pacientes con IRC se observaba precozmente, incluso antes de que se objetivara un aumento de los niveles de hematocrito (41, 43, 44), lo que sugiere que la rhuEPO mejora la hemostasia por mecanismos independientes del aumento del hematocrito.

### **Efectos de la rhuEPO sobre el recuento y función plaquetarios**

Estudios *in vitro* han demostrado un efecto de rhuEPO sobre la línea megacariocítica (45). La mayoría de estudios han descrito un aumento inicial del 10-20% del recuento plaquetario, aunque dentro del rango de normalidad, que vuelve a los valores basales con el tratamiento continuado (36, 38, 41-43, 46-48). Sin embargo, es improbable que la magnitud de este incremento tenga significación clínica (49). La mayoría de autores han descrito que el tratamiento con rhuEPO acorta el tiempo de sangría prolongado en pacientes urémicos (5, 38, 41, 44, 48, 51-55, 59). Esta mejora de la hemostasia primaria se asocia con una mejora del funcionalismo plaquetario (38, 41, 42, 52-58, 81), aunque no todos los autores lo han confirmado (42, 59, 61). La mejora del funcionalismo plaquetario es específico de esta hormona y no debido al aumento de la masa eritrocitaria (50, 55, 58). Sin embargo, la adición *in vitro* de rhuEPO sobre plaquetas no afecta su agregación (54, 62), lo cual sugiere que los efectos de rhuEPO sobre la función plaquetaria se ejercen a nivel del megacariocito.

Los mecanismos propuestos por los que la rhuEPO mejoraría la disfunción plaquetaria en la uremia son:

a) *Aumento de la movilización del calcio intracelular:* son varios los trabajos que han demostrado un aumento de la

mobilización del calcio citosólico plaquetario (38, 63, 64), lo que favorecería la agregabilidad plaquetaria, aunque no todos los autores están de acuerdo (65, 66). Las discrepancias en la literatura sobre este aspecto podrían explicarse por la diferente ruta de administración (intravenosa o subcutánea), así como a diferencias metodológicas.

- b) *Aumento del volumen plaquetario y de plaquetas reticuladas*: diversos autores han descrito un aumento del volumen plaquetario durante el tratamiento con rhuEPO (52, 67, 68), aunque no todos los autores están de acuerdo (38, 41, 61). Es conocido que las plaquetas de mayor volumen son más reactivas. Estos resultados han sido recientemente confirmados por nuestro grupo, que ha descrito un aumento del número de plaquetas reticuladas durante las fases iniciales del tratamiento con rhuEPO en pacientes hemodializados (69). Además, en un estudio experimental, el tratamiento con rhuEPO a dosis suprafarmacológicas (500 UI/kg/día, sbc) durante 5 días aumentaba dramáticamente el número de plaquetas reticuladas en perros, y estas plaquetas eran más reactivas que las plaquetas reticuladas de perros control (70). Estos resultados sugieren que el tratamiento con rhuEPO favorece la liberación de plaquetas reticuladas y que estas son hiperreactivas. El mismo grupo ha descrito que los perros tratados con rhuEPO presentaban un aumento de la trombogenicidad en un modelo canino de trombolisis de fístula AV, lo que sugería que este tratamiento induciría un estado protrombótico (71).
- c) *Cambios a nivel de los receptores plaquetarios*: las plaquetas urémicas presentan alteraciones cuantitativas y cualitativas de los receptores que median la adhesión (GPIb) y la agregación plaquetarias (GPIIb/IIIa). Durante el tratamiento con rhuEPO se ha descrito un aumento de la densidad de GPIb, el receptor para el factor von Willebrand y que media la adhesión plaquetaria (72). En cambio, no se han observado cambios en la expresión de receptores de fibrinógeno (GPIIb/IIIa) y glicoproteína IIb (GPIIb) durante el tratamiento con rhuEPO en pacientes urémicos (68). Gawaz y cols. tampoco observaron diferencias en el ligado de anticuerpos monoclonales que reconocen los cambios conformacionales de la GPIIb/IIIa en plaquetas activadas con ADP entre pacientes urémicos que recibían rhuEPO y los que no lo recibían. Además, tampoco observaron diferencias en la función de la GPIIb/IIIa en pacientes con IRCT que recibían rhuEPO y los que no, lo que sugería que este tratamiento no corregía las alteraciones funcionales de la GPIIb/IIIa descritas en la uremia (73).
- d) *Cambios en la composición de fosfolípidos de membrana*: se ha descrito que la composición de los fosfolípidos de la membrana plaquetaria está alterada en la uremia y que el tratamiento con rhuEPO normaliza parcialmente la misma (74), aunque la significación clínica de estos cambios es desconocida.

e) *Cambios en los niveles de serotonina*: se ha observado un aumento de los niveles plasmáticos de serotonina y la corrección del defecto de almacenamiento plaquetario de serotonina de la uremia durante el tratamiento con rhuEPO hasta 12 semanas, además el tiempo de sangría y la agregación plaquetaria inducida por ristocetina se correlacionaban con los niveles plasmáticos y plaquetarios de serotonina (43). El tratamiento con ketanserina, un bloqueante de los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, disminuía la agregación plaquetaria inducida por ristocetina en pacientes tratados con rhuEPO durante 8 meses (75). Estos estudios sugieren que mecanismos serotoninérgicos están implicados en la mejora a corto y medio plazo de la hemostasia primaria durante el tratamiento con rhuEPO.

f) *Cambios en los nucleótidos plaquetarios*: se ha descrito que las plaquetas de pacientes urémicos tienen un aumento de AMP cíclico intraplaquetario y liberan menos ATP durante la agregación que las plaquetas control; el tratamiento con rhuEPO disminuye el contenido plaquetario de AMP cíclico y mejora la liberación de ATP y tromboxano plaquetarios durante la agregación (76).

g) *Movilización de proteínas del citoesqueleto plaquetario*: nuestro grupo ha descrito que la incorporación de proteínas al citoesqueleto plaquetario y la tirosin-fosforilación de proteínas asociadas al citoesqueleto en lisados de plaquetas están disminuidas en pacientes con IRC, así como que el tratamiento con rhuEPO mejoraba la incorporación de proteínas al citoesqueleto plaquetario y aumentaba la tirosin-fosforilación de proteínas asociadas al citoesqueleto a niveles incluso superiores a los descritos en plaquetas de controles sanos (77). Estos resultados sugieren que el tratamiento con rhuEPO también mejora la transducción de señales alterada en las plaquetas de pacientes urémicos.

## Efecto de la rhuEPO sobre la coagulación fibrinolisis en la IRC

En pacientes urémicos se ha descrito un estado de hipercoagulabilidad (26, 78). Existen importantes discrepancias en la literatura sobre el efecto del tratamiento con rhuEPO sobre la coagulación y la fibrinolisis. La mayoría de autores no han hallado evidencias de una activación de la coagulación intravascular durante el tratamiento con rhuEPO en pacientes urémicos (5, 26, 36, 42, 57, 59, 79, 80, 87). Aunque algunos autores han descrito aumentos de los niveles de fibrinógeno durante el tratamiento con rhuEPO en pacientes urémicos (55-57, 78, 81, 82), la mayoría de autores no han confirmado estos hallazgos (5, 26, 42-44, 46, 51, 59, 79, 80, 83, 84, 87). Algunos autores han descrito aumentos de los niveles de factor von Willebrand antigénico o de su actividad (50, 52, 55, 56, 85), aunque otros no han demostrado cambios (5, 42, 57, 59, 81, 86, 87, 91) en este factor. Tampoco se han descrito aumentos en los niveles circulantes de

multímeros de alto peso molecular del factor von Willebrand (91).

Tampoco existe consenso en la literatura respecto a los efectos del tratamiento con rHuEPO sobre los inhibidores naturales de la coagulación. Así, se han descrito niveles similares (36, 51, 53, 57, 59, 80, 84, 88), aumentados (55) o disminuidos (43, 44, 78, 83, 87) de antitrombina III durante el tratamiento con rHuEPO. Algunos estudios han descrito descensos en los niveles de proteína C y/o proteína S total o libre durante el tratamiento con rHuEPO (43, 53, 56, 80, 84, 87), aunque otros no han observado cambios (36, 51, 59, 82, 83, 86, 88). Sin embargo, en los estudios en que se han descrito descensos en los niveles de los anticoagulantes naturales, estos cambios parecen ser transitorios, por lo que su significación clínica es dudosa (56, 80, 84).

Durante el tratamiento con rHuEPO, algunos estudios han descrito aumentos transitorios en los niveles de inhibidor del activador de plasminógeno tipo I (PAI-1) (56, 82, 90), mientras otros han observado descensos (43) y otros no han observado cambios significativos (26, 36, 53, 61, 87, 92). Aunque algunos autores han observado un aumento de los niveles de activador tisular del plasminógeno (t-PA) (43, 61), la mayoría de estudios no ha observado cambios (26, 53, 56, 82, 87, 92). Un estudio ha descrito que la liberación de t-PA tras oclusión venosa está disminuida en pacientes en diálisis peritoneal tratados con rHuEPO (91), lo cual sugiere que la liberación endotelial de este factor está disminuida; otros estudios no han confirmado estos hallazgos en pacientes hemodializados (82, 92). Los niveles de plasminógeno se han descrito disminuidos (44, 53, 78) o similares (43, 80, 87) respecto al periodo pre-rHuEPO, mientras que se ha descrito que la fibrinólisis está aumentada (61, 78, 89), conservada (26, 43, 59, 79) o incluso disminuida (36, 90) durante el tratamiento con rHuEPO. Por tanto, podemos concluir de esta revisión de la literatura que no existen evidencias claras que los efectos del tratamiento con rHuEPO sobre la coagulación o fibrinólisis empeoren el estado de hipercoagulabilidad descrito en los pacientes urémicos.

## Efectos vasculares de la rHuEPO

Aunque los efectos de la rHuEPO sobre el funcionalismo plaquetario y la hemostasia han sido estudiados exhaustivamente, los efectos vasculares de esta hormona no están todavía totalmente dilucidados. Se ha demostrado la presencia de receptores para eritropoyetina en células endoteliales (93, 94) y en células musculares lisas vasculares (95), indicando que esta hormona también ejerce acciones biológicas sobre la vasculatura. La rHuEPO induce la proliferación y migración de células endoteliales de forma dosis-dependiente (93, 94, 96, 97). Además, estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que la rHuEPO favorece la angiogénesis (98) y muestra una interacción positiva con el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) (99). Asimismo, la

rHuEPO a dosis suprafarmacológicas (100 U/ml) inhibe la apoptosis de células endoteliales inducida por lipopolisacáridos *in vitro*, lo que sugiere que esta hormona tiene un efecto protector sobre el endotelio vascular (100).

En células musculares lisas vasculares de rata, la rHuEPO a dosis suprafarmacológicas (100-250 U/ml) aumenta la concentración de calcio intracelular (101) (lo que favorece la vasoconstricción), aunque estudios que han utilizado dosis menores no tuvieron ningún efecto sobre las células musculares lisas vasculares (102). Además, la rHuEPO aumenta la síntesis de DNA y favorece la expresión de protooncogenes en células musculares lisas vasculares (103). Los efectos proliferativos de rHuEPO sobre la célula muscular lisa son ejercidos a través de la activación de la cascada de la fosfolipasa C y modulación de la expresión de protooncogenes, lo que podría contribuir al desarrollo de hipertrofia vascular y a una aceleración de la arteriosclerosis en estos pacientes (104).

Diversos estudios han demostrado que la rHuEPO aumenta la expresión de mRNA de pre-proendotelina 1 (105-110) y aumenta los niveles circulantes de endotelina 1 en pacientes (111-113) y animales (114), aunque no hay un consenso sobre este aspecto en la literatura (115-120). Es conocido que la endotelina 1 induce una vasoconstricción potente y sostenida y favorece la proliferación de la célula muscular lisa vascular (121).

La administración crónica de rHuEPO ha demostrado aumentar la expresión aórtica y renal de renina y angiotensinógeno en ratas Wistar normales sin cambios en la actividad renina plasmática (122). Más recientemente, el mismo grupo ha demostrado que la rHuEPO aumenta la expresión de mRNA de renina, angiotensina y receptores de angiotensina subtipos 1 y 2 en células musculares lisas vasculares *in vitro* (123). Un aumento de los niveles de angiotensina II a nivel vascular tendría importantes efectos sobre la misma: la angiotensina II es un potente vasoconstrictor, induce la proliferación y migración de la célula muscular lisa vascular, la generación de matriz subendotelial, la interacción leucocito-célula endotelial, induce la liberación de citoquinas, el estrés oxidativo, favorece la trombosis e inhibe la fibrinólisis (124, 125). Aunque el tratamiento con rHuEPO no parece aumentar los niveles circulantes de renina o angiotensina II en animales (114, 122) o en pacientes urémicos (113, 126-128), ello no descarta una activación de este sistema a nivel vascular. En este sentido se ha descrito un aumento de la respuesta presora a la angiotensina II en pacientes urémicos tratados con rHuEPO, a pesar de no detectar cambios en la renina plasmática (128). Además, recientemente se están acumulando evidencias de una interrelación positiva entre el sistema renina-angiotensina y la endotelina 1 (129), por lo que la posible activación de ambos sistemas presores inducida por la rHuEPO podría tener efectos multiplicativos sobre el sistema vascular.

Bode-Boger y cols. describieron que la incubación de segmentos de aorta de conejo con rHuEPO a concentracio-

nes entre 20 y 200 UI/ml aumentaba la liberación de los prostanoïdes vasoconstrictores prostaglandina  $F_{2\alpha}$  y tromboxano  $B_2$  y disminuía la liberación de prostaciclina (107). Sin embargo, estos hallazgos no han sido confirmados en estudios experimentales utilizando concentraciones de rhuEPO dentro de rango terapéutico (0-1-2 UI/ml) (114) o en pacientes urémicos (52, 86, 130), lo que sugiere que el tratamiento con rhuEPO no tiene efectos negativos sobre la liberación de prostanoïdes.

No hay tampoco consenso en la literatura respecto a los efectos del tratamiento con rhuEPO sobre la liberación de óxido nítrico (NO). Estudios *in vitro* han descrito ausencia de cambios (115), aumentos (131) o descensos (132) en la liberación de NO y/o expresión de la NO sintasa. En ratas normales se ha descrito que el tratamiento con rhuEPO aumenta la producción de NO (133, 134), pero no en ratas urémicas (135). Además, Vaziri y cols. han descrito que la rhuEPO reduce la respuesta hipotensora a dadores de óxido nítrico en ratas urémicas (136). Ello podría sugerir que el tratamiento con rhuEPO estimula la vía NO-GMP cíclico en condiciones normales, pero no en la uremia. Asimismo, podría explicar en parte que el efecto hipertensivo de rhuEPO sólo se manifieste en pacientes urémicos tratados con esta hormona (14).

Las evidencias sobre el efecto del tratamiento con rhuEPO sobre la función endotelial en la clínica son también contradictorias. Los estudios que han valorado la función endotelial determinando niveles plasmáticos de factores derivados del endotelio arrojan resultados discrepantes: mientras dos estudios recientes sugirieron que el tratamiento con rhuEPO mejoraba la función endotelial (26, 121), otro estudio ha descrito que este tratamiento empeoraba la función endotelial en pacientes en diálisis peritoneal (91). Desgraciadamente no se dispone hasta la fecha de estudios que hayan evaluado los efectos *in vivo* sobre la función endotelial a largo plazo del tratamiento con rhuEPO en pacientes con IRCT. Buemi y cols. describieron que la infusión de dosis elevadas de rhuEPO empeora la vasodilatación endotelio-dependiente cutánea en sujetos sanos (137). Más recientemente se ha descrito que la administración aguda de rhuEPO empeora la vasodilatación endotelio-dependiente en pacientes urémicos (138), lo que sugiere que este tratamiento tiene un efecto deletéreo sobre el funcionalismo endotelial.

## Conclusiones

El tratamiento con eritropoyetina mejora la hemostasia primaria alterada que presentan los pacientes urémicos a través del aumento del hematocrito y, por ende, de la viscosidad sanguínea, además de mejorar la trombopatía que presentan estos pacientes. Sin embargo, el tratamiento con rhuEPO no parece agravar el estado de hipercoagulabilidad que presentan los pacientes urémicos. Aunque los efectos de la rhuEPO *in vitro* sobre el endotelio son complejos y pa-

recen favorecer el desarrollo de hipertensión y de complicaciones trombóticas en estos pacientes, los estudios *in vivo* y la realidad clínica no parecen abonar estos hechos, por lo que los efectos del tratamiento con rhuEPO y de la corrección de la anemia sobre la función endotelial y vascular en los pacientes urémicos merecerían ser objeto de estudios más profundos.

## Bibliografía

1. ESCHBACH JW, EGRIE JC, DOWNING MR, BROWNE JK, ADAMSON JW. Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin: results of a combined phase I and II clinical trial. *N Engl J Med* 1987; 316: 73-77.
2. WINEARLS G, OLIVER DO, PIPPAARD MJ, REID C, DOWNING MR, COTES PM. Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet* 1986; II: 1175-1178.
3. CASATI S, PASSERINI P, CAMPISE M, GRAZIANI G, CESANA B, MERISIC M et al. Benefits and risks of protracted treatment with human recombinant erythropoietin in patients having haemodialysis. *Br Med J* 1987; 295: 1017-1020.
4. CANADIAN ERYTHROPOIETIN STUDY GROUP. Association between recombinant human erythropoietin and quality of life and exercise capacity of patients receiving haemodialysis. *Br Med J* 1990; 573-578.
5. MOIA M, VIZZOTTO L, CATTANEO M, MANNUCI PM, CASATI S, PONTICELLI C. Improvement in the hemostatic defect of uraemia after treatment with recombinant human erythropoietin. *Lancet* 1987; II: 1227-1229.
6. LEVEY AS, EKNOYAN G. Cardiovascular disease in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 828-833.
7. MADORE F, LOWRIE EG, BRUGNARA C, LEW NL, LAZARUS JM, BRIDGES K, OWEN WF. Anemia in hemodialysis patients: variables affecting this outcome predictor. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1921-29.
8. FOLEY RN, PARFREY PS, HARNETT JD, KENT GM, MURRAY DC, BARRE PE. The impact of anemia on cardiomyopathy, morbidity and mortality in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 1996; 28: 53-61.
9. MA JZ, EBBEN J, XIA H, COLLINS AJ. Hematocrit level and associated mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 610-619.
10. SILBERBERG J, RAHAL D, PATTON R, SNIDERMAN A. Role of anemia in the pathogenesis of left ventricular hypertrophy in end-stage renal disease. *Am J Cardiol* 1989; 64: 222-224.
11. SILBERBERG JS, BARRE PE, PRICHARD SS, SNIDERMAN AD. Impact of left ventricular hypertrophy on survival in end-stage renal disease. *Kidney Int* 1989; 36: 286-290.
12. VAZIRI ND. Mechanism of erythropoietin-induced hypertension. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 821-828.
13. ANEMIA WORK GROUP FOR NATIONAL KIDNEY FOUNDATION-DIALYSIS OUTCOMES QUALITY INITIATIVE (NFK-DOQI). Clinical practice guidelines for treatment of anemia of chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1997; 30 (suppl 3): 192-240.

14. SOWADE B, SOWADE O, MÖCKS J, FRANKE W, WARNKE. The safety of treatment with recombinant human erythropoietin in clinical use: A review of controlled trials. *Int J Mol Med* 1998; 1: 303-314.
15. LONDON GM, ZINS B, PANNIER B, et al. Vascular changes in hemodialysis patients in response to recombinant human erythropoietin. *Kidney Int* 1989; 36: 878-882.
16. PASCUAL J, TERUEL JL, MOYA JL, LIAÑO F, JIMÉNEZ-MENA M, ORTUÑO J. Regression of left ventricular hypertrophy after partial correction of anemia with erythropoietin in patients on hemodialysis: a prospective study. *Clin Nephrol* 1991; 35: 280-287.
17. LOW-FRIEDERICH I, GRUTZMACHER P, MARZ W, BERGMANN M, SCHÖEPPE W. Therapy with recombinant human erythropoietin reduces cardiac size and improves heart function in chronic hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 1991; 11: 54-60.
18. GOLDBERG N, LUNDIN AP, DELANO B. Changes in left ventricular size, wall thickness and function in anemic patients treated with recombinant human erythropoietin. *Am Heart J* 1992; 124: 424-427.
19. BAJO MA, SELGAS R, CASTRO MJ, JIMÉNEZ C, FERNÁNDEZ-REYES MJ, DEL PESO G, DE ÁLVARO F, SÁNCHEZ-SICILIA AL. Erythropoietin treatment decreases cardiovascular morbidity and mortality in CAPD patients. *Perit Dial Int* 1997; 17: 129-135.
20. ETOILE WORKING GROUP. XVth International Congress of Nephrol 1999; May 2-6, Buenos Aires.
21. ISEKI K, NISHIME K, UEHARA H, TOKUYAMA K, et al. Increased risk of cardiovascular disease with erythropoietin in chronic dialysis patients. *Nephron* 1996; 72: 30-36.
22. KLINKMANN H, WIECZOREK L, SCIGALLA P. Adverse events of subcutaneous recombinant human erythropoietin therapy. Results of a controlled multicenter european study. *Artif Organs* 17: 219-225, 1993
23. LOCATELLI F, CONTE F, MARCELLI D. The impact of hematocrit levels and erythropoietin treatment on overall and cardiovascular mortality and morbidity: The experience of the Lombardy Dialysis registry. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1642-1644.
24. MÖCKS J. Analysis of safety database for long-term epoetin-beta treatment. A meta-analysis covering 3.697 patients; in Koch, Stein (eds): *Pathogenic and Therapeutic Aspects of Chronic Renal Failure*, chap 12. New York, Dekker 1997. Pp 163-179.
25. ESCHBACH JW, AQUILING T, HALEY NR, FAN MH, BLAGG CR. The long-term effects of recombinant human erythropoietin on the cardiovascular system. *Clin Nephrol* 1992; 38 (supl 1): S98-S93.
26. DE MARCHI S, CECCHIN E, FALLETTI E, GIACOMELLO R, STEL G, SEPIACCI G, BORTOLOTTI N, ZANELLO F, GONANO F, BARTOLI E. Long-term effects of erythropoietin therapy on fistula stenosis and plasma concentrations of PDGF and MCP-1 in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1147-1156.
27. SONG IS, YANG WS, KIM SB, LEE JH, KWON TW, PARK JS. Association of plasma fibrinogen concentration with vascular access failure in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 137-141.
28. DY GR, BLOOM EJ, IJELU GK, MERRITTS GW, KRANER MS, RAJA RM. Effect of recombinant human erythropoietin on vascular access. *ASAIO Trans* 1991; 37: M274-M275.
29. CHURCHILL DN, MUIRHEAD N, GOLDSTEIN M, POSEN G, FAY W, BEECROFT ML, GORMAN G, TAYLOR DW. Probability of thrombosis of vascular access among hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4: 1809-1813.
30. MUIRHEAD N, LAPAUCIS A, WONG C. Erythropoietin for anemia in hemodialysis patients: results of a maintenance study (The Canadian Erythropoietin Study Group). *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7: 811-816.
31. ROTH DA, CIAMPAGLIA SK, BENJAMIN J. Effect of hemoglobin and erythropoietin dosage on prosthetic arteriovenous access graft survival. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8:170°.
32. ESCHBACH JW, EGRIE JC, DOWNING MR, BROWNE JK, ADAMSON JW. The safety of epoetin-alpha. Results of clinical trials in the United States. *Contrib Nephrol* 1991; 88: 72-80.
33. GRUTZMACHER P, BERGMANN M, WEINREICH T, NATTERMAN U, REIMERS E, POLLOCK M. Beneficial and adverse events of correction of anemia by recombinant human erythropoietin in patients on maintenance hemodialysis. *Contrib Nephrol* 1988; 66: 104-113.
34. CANAUD B, POLITO-BOULOUX C, GARRED LJ, et al. Recombinant human erythropoietin: 18 months' experience in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1990; 15: 169-175.
35. DUNN CJ, MARKHAM A. EPOETIN BETA. A review of its pharmacological properties and clinical use in the management of anemia associated with chronic renal failure. *Drugs* 1996; 51: 299-318.
36. CLYNE N, LINS LE, EGBERG N. Long-term effects of erythropoietin treatment on the coagulation system during standardized hemodialysis. *Clin Nephrol* 1995; 43: 260-267.
37. WAKKEN M, ZIMMERMAN SW. Association between human recombinant EPO and peripheral vascular disease in diabetic patients receiving peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 488-493.
38. VAN GEET C, VAN DAMME-LOMBAERTS R, VANRUSSELT M, DE MOL A, PROESMANS W, VERMYLEN J. Recombinant human erythropoietin increases blood pressure, platelet aggregability and platelet free calcium mobilisation in uremic children: a possible link? *Thromb Haemost* 1990; 64: 7-10.
39. LIVIO M, GOTTI E, MARCHESI D, REMUZZI G, MECCA G, DE GAETANO G. Uraemic bleeding: Role of anemia and beneficial effect of red cell transfusions. *Lancet* 1982; II: 1013-1015.
40. FERNÁNDEZ F, GOUDABLE C, SIE P, TON-THAT D, DURAND JM. Low hematocrit and prolonged bleeding time in uremic patients: effect of red cell transfusions. *Br J Haematol* 1985; 59: 139-148.
41. CASES A, ESCOLAR G, REVERTER JC, ORDINAS A, LOPEZ-PEDRET J, REVERT L, CASTILLO R. Recombinant human erythropoietin improves platelet function in uremic patients. *Kidney Int* 1992; 42: 668-672.
42. GORDGE MP, LEAKER B, PATEL A, OVIASU E, CAMERON JS, NEILD GH. Recombinant human erythropoietin shortens the uremic bleeding time without causing intravascular hemostatic activation. *Thromb Res* 1990; 57: 171-182.
43. MALYSZKO J, MALYSZKO JS, BORAWKI J, RYDZEWSKI A, KALINOWSKI M, AZZADIN A, MYSLIWIEC M, BUCZKO W. A study of platelet functions, some hemostatic and fibrinolytic parameters in relation to serotonin in hemo-



- dialyzed patients under erythropoietin therapy. *Thromb Res* 1995; 77: 133-143.
44. TSAO CJ, KAO RH, CHENG TY, HUANG CC, CHANG SL, LEE FN. The effect of recombinant human erythropoietin on hemostatic status in uremic patients. *Int J Haematol* 1992; 55: 197-201.
  45. FRASER JK, TAN AS, LIN FK, BERRIDGE MV. Expression of specific high-affinity binding sites for erythropoietin on rat and mouse megakaryocytes. *Exp Haematol* 1989; 17: 10-16.
  46. ESCHBACH JW, ADDULHADI MH, BROWNE JK, DELANO BG, DOWNING MR, EGRIE JC, EVAN RW, FRIEDMAN EA, GRABER SE, HALEY NR, KORBET S, KRANTZ SB, LUNDIN AP, NISSENSON AR, OGDEN DA, PAGANINI EP, RADER B, RUTSKY EA, STIVELMAN J, STONE WJ, TESCHAN P, VAN STONE JC, VAN WYCK DB, ZUCKERMAN K, ADAMSON JW. Recombinant human erythropoietin in anemic patients with end-stage renal disease. Results of a phase III multicenter clinical trial. *Ann Intern Med* 1989; 111: 992-1000.
  47. KAUPKE CJ, BUTLER GC, VAZIRI ND. Effect of recombinant human erythropoietin on platelet production in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1993; 3: 1672-1679.
  48. FABRIS F, CORDIANO I, RANDI ML, CASONATO A, MONTINI G, ZACCHELLO G, GIROLAMI A. Effect of human recombinant erythropoietin on bleeding time, platelet number and function in children with end-stage renal disease maintained by haemodialysis. *Pediatric Nephrol* 1991; 5: 225-228.
  49. ADAMSON JW. Wither the platelet? *N Engl J Med* 1988; 318: 1331-1332.
  50. ZWAGINGA JJ, IJSSELDIJK MJW, DE GROOT PG, KOOISTRA M, VOS J, VAN ES A, KOOMANS HA, STRUYVENBERG A, SIXMA JJ. Treatment of uremic anemia with recombinant human erythropoietin reduces the defect in platelet adhesion and aggregation caused by uremic plasma. *Thromb Haemost* 1991; 66: 638-647.
  51. MAURIN N, FITZNER S, FRITZ H, GLADZIWA U, HAGEMEL J, STEFANIDIS I. Influence of recombinant human erythropoietin on hematological and hemostatic parameters with special reference to microhemolysis. *Clin Nephrol* 1995; 43: 196-200.
  52. AKIZAWA T, KINAGUSA E, KITAOKA T, KOSHIKAWA S. Effects of recombinant human erythropoietin and correction of anemia on platelet function in hemodialysis patients. *Nephron* 1991; 58: 400-406.
  53. WIRTZ JJ, VAN ESSER JW, HAMULYAK K, LEUNISSEN KM, VAN HOOFF JP. The effects of recombinant human erythropoietin on hemostasis and fibrinolysis in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1992; 38: 277-282.
  54. EL-SHAHABY MA, FRANCIS R, AKMAL M, MASSRY SG. Recombinant human erythropoietin shortens the bleeding time and corrects the abnormal platelet aggregation in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1994; 41: 308-313.
  55. HURAI B, AL-MOMEN AK, GADER MA, MITWALLI A, SULIMANI F, ABU-AISHA H. Effect of recombinant human erythropoietin (rhuEPO) on the hemostatic system in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1991; 36: 252-257.
  56. TAYLOR JE, BELCH JJF, MCLAREN M, HENDERSON IS, STEWART WK. Effect of erythropoietin and withdrawal on blood coagulation and fibrinolysis in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1993; 44: 182-190.
  57. GRUTZMACHER P, BERGMAN M, SCHOEPE W, BREDDIN K. Thrombocyte function and plasmatic coagulation under recombinant human erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 1989; 4: 473A.
  58. ROGER SD, PIPER J, TUCKER B, RAINE AEG, BAKER LRI, KOVACS IB. Enhanced platelet reactivity with erythropoietin but not following transfusion in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8: 213-217.
  59. JOHNSON WL, MCCARTHY JT, YANAGIHARA T, OSMONDSON PJ, ILSTRUP DM, JENSON BM, WALTER BOWIE EJ. Effects of recombinant human erythropoietin on cerebral and cutaneous blood flow and on blood coagulability. *Kidney Int* 1990; 38: 919-924.
  60. ZIRKMAN DM, ZEIGLER ZR, FRALEY DS, BRUNS FJ, ADLER S. Evaluation of platelet hyperfunction in hemodialysis patients receiving recombinant human erythropoietin. *Am J Kidney Dis* 1993; 21: 31-37.
  61. STENVER D, JEPPESEN L, NIELSEN B, DALSGAARD NIELSEN J, HAEDERSDAL C, MEHLSSEN J, WINTHER K. The effect of erythropoietin on platelet function and fibrinolysis in chronic renal failure. *Int J Artif Organs* 1994; 17: 141-145.
  62. TAYLOR JE, BELCH JJ, HENDERSON IS, STEWART WK. Erythropoietin does not increase whole-blood platelet aggregation in vitro. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 556-558.
  63. SCHIFFL H, LANG SM. Hypertension induced by recombinant human erythropoietin can be prevented by indomethacin. Pathogenic role of cytosolic calcium. *Eur J Med Res* 1997; 24: 97-100.
  64. SCHIFFL H. Correlation of blood pressure in end-stage renal disease with platelet cytosolic free calcium concentration during treatment of renal anemia with recombinant human erythropoietin. *Int J Artif Organs* 1992; 15: 343-348.
  65. LO CASCIO C, GUZZO P, LOSCHIAVO C, MANZATO F, LECHI C. Platelet intracellular calcium is not modified by subcutaneous administration of erythropoietin. *Thromb Haemost* 1994; 72: 326-327.
  66. FLUCK RJ, ROGER SD, MCMAHON AC, RAINE AE. Modulation of platelet cytosolic calcium during erythropoietin therapy in uremia. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 1109-1114.
  67. SHARPE PC, DESAI ZR, MORRIS TC. Increase in mean platelet volume in patients with chronic renal failure treated with erythropoietin. *J Clin Pathol* 1994; 47: 159-161.
  68. KRZESŁOWSKA J, RYSZ J, CIERNIEWSKI CS, LUCIAK M. Expression of fibrinogen receptors and GPIIb molecules on uremic platelets: effect of recombinant human erythropoietin therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 653-656.
  69. TASSIES D, REVERTER JC, CASES A, CALLS J, ESCOLAR G, ORDINAS A. Effect of recombinant human erythropoietin treatment on circulating reticulated platelets in uremic patients: Association with early improvement in platelet function. *Am J Haematol* 1998; 59: 105-109.
  70. WOLF RF, PENG J, FRIESE P, GILMORE LS, BURSTEIN SA, DALE GL. Erythropoietin administration increases production and reactivity of platelets in dogs. *Thromb Haemost* 1997; 78: 1505-1509.
  71. WOLF RF, GILMORE LS, FRIESE P, DOWNS T, BURSTEIN SA, DALE GL. Erythropoietin potentiates thrombus development in a canine arterio-venous shunt model. *Thromb Haemost* 1997; 77: 1020-1024.



72. LIANI M, SALVATI F, NUBILE G, TRESKA E, VELUSSI C, MIDRIO M. Von Willebrand factor and rise in ristocetin co-factor with erythropoietin. *Lancet* 1993; 341:1221.
73. GAWAZ MP, DOBOS G, SPÄTH M, SCHOLLMAYER P, GURLAND HJ, MUJAIS SK. Impaired function of platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5: 36-46.
74. KRAWCZYK W, DMOSZYNSKA A, MARCZEWSKI K, LEDWOZYW A. Human erythropoietin improves blood platelet phospholipid composition in chronically hemodialyzed patients. *Exp Nephrol* 1995; 3: 265-266.
75. BORAWSKI J, RYDZEWSKI A, PAWLAK K, AZZADIN A, BUCZKO W, MYSLIWIEC M. Long-term effects of erythropoietin on platelet serotonin storage and platelet aggregation in hemodialysis patients with reference to ketanserin treatment. *Thromb Res* 1998; 15: 171-180.
76. TURI S, SOOS J, BERSZCZKI C, HAVASS Z. The effect of erythropoietin on platelet function in uremic children on hemodialysis. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 727-732.
77. DÍAZ-RICART M, ESTEBANELL E, CASES A, LÓPEZ-PEDRET J, CASTILLO R, ORDINAS A, ESCOLAR G. Erythropoietin improves signalling through tyrosine phosphorylation in platelets from uremic patients. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1312-1317.
78. TOMURA S, NAKAMURA Y, TACHIBANA K, DEGUCHI F, ANDO R, CHIDA Y, MARUMO F. Enhanced coagulation and fibrinolysis during treatment with recombinant human erythropoietin in patients undergoing chronic hemodialysis. *Blood Purif* 11: 270-377. 1993.
79. KAIZU K, URIU K, ETO S. Effects of recombinant human erythropoietin on the coagulation and fibrinolytic systems and platelet function in pre-dialysis patients with chronic renal failure. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 35: 989-997, 1993.
80. JAAR B, DENNIS A, VIRON B, VERDY E, CHAMMA F, SIOHAN P, MIGNON F. Effects of long-term treatment with recombinant human erythropoietin on physiologic inhibitors of coagulation. *Am J Nephrol* 17: 399-405, 1997.
81. HURAIB S, GADER AM, AL-MOMEN AK, AISHA A, AL-WAKEEL J, MEMON NA. One-year experience of very low-doses of subcutaneous erythropoietin in continuous ambulatory peritoneal dialysis and its effects on haemostasis. *Haemostasis* 1995; 25: 299-304.
82. AUNSHOLT NA, AHLBOM G, STEFFENSEN G, GLUD T. Fibrinolytic capacity in hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Nephron* 1992; 62: 284-288.
83. ARINSOY T, OZDEMIR O, ARIK N, OZCEBE O, YASAVUL U, DUNDAR S, TURGAN C, KIRAZLI S, CAGLAR S. Recombinant human erythropoietin treatment may induce antithrombin III depletion. *Nephron* 62: 480-481, 1992.
84. MACDOUGALL IC, DAVIES ME, HALLETT I, COCHLIN DE, HUTTON RD, COLES GA, WILLIAMS JD. Coagulation studies and fistula blood flow during erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1991; 6: 862-867.
85. TAYLOR JE, BELCH JF, MCLAREN M, STEWART WK. Effect of nifedipine on changes in fibrinogen and von Willebrand factor in haemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Blood Coagul Fibrin* 1995; 6: 100-104.
86. TAKAYAMA K, NAGAI T, KINUGASA E, AKIZAWA T, KOSHIKAWA S. Changes in endothelial vasoactive substances and blood coagulation and fibrinolysis functions under recombinant human erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1993; 35: 179-188.
87. CASES A, REVERTER JC, ESCOLAR G, SORRIBES J, LÓPEZ-PEDRET J, REVERT L, ORDINAS A. Efecto del tratamiento con eritropoyetina recombinante humana sobre la coagulación y la fibrinolisis. *Nefrología* 1994; 14: 87-91.
88. LAI KN, YIN JA, LI PK, YUEN PM, LUI SF. Effect of subcutaneous administration of recombinant human erythropoietin on plasma protein C, protein S and antithrombin III in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Int J Artif Organs* 1995; 15: 264-268.
89. SZEWCZUK J, MAZERSKA A, MALYSZKO J, KALINOWSKI M, MYSLIWIEC M. Increase in fibrinolytic activity after erythropoietin therapy. *Thromb Haemost* 1992; 67: 284.
90. AL-MOMEN AK, HURAIB SO, GADER AMA, SULAIMANI F. Low-dose danazol is effective in management of erythropoietin induced thrombosis. *Thromb Res* 1991; 64: 527-532.
91. AGUILERA A, SELGAS R, RUIZ-CARAVACA ML, BAJO MA, CUESTA MV, PLAZA MA, HERNANZ A. Effects of recombinant human erythropoietin on functional and injury endothelial markers in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1999; 19 (suppl 2): S161-166.
92. OPATRYN K, OPATRYN VL, BODLAKOVA B, SULKOVA S, OPATRYN K, KRISTIAN M. The effect of erythropoietin on fibrinolysis in hemodialyzed patients. *Cas Lek Cesk* 1995; 8: 136-138.
93. ANAGNOSTOU A, LEE ES, KESSIMIAN N, LEVINSON R, STEINER M. Erythropoietin has a mitogenic and positive chemotactic effect on endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 587-591.
94. ANAGNOSTOU A, LIU Z, STEINER M, CHIN K, LEE ES, KESSIMIAN N, NOGUCHI CT. Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3974-3978.
95. AMMARGUELLAT F, GOGUSEV J, DRUEKE TB. Direct effect of erythropoietin on rat vascular smooth-muscle cell via a putative erythropoietin receptor. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 687-692.
96. HALLER H, CHRISTEL C, DANNENBERG L, THIELE P, LINDSCHAU C, LUFT FC. Signal transduction of erythropoietin in endothelial cells. *Kidney Int* 1996; 50: 481-488.
97. CARLINI RG, REYES AA, ROTHSTIEN M. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis in vitro. *Kidney Int* 1995; 47: 740-745.
98. RIBATTI D, PRESTA M, VACCA A, RIA R, GIULIANI R, DELL'ERA P, NICO B, RONCALLI L, DAMMACCO F. Human erythropoietin induces a pro-angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo. *Blood* 1999; 15: 2627-2636.
99. ÁLVAREZ ARROYO MV, CASTILLA MA, GONZÁLEZ PACHECO FR, TAN D, RIESCO A, CASADO S, CARAMELO C. Role of vascular endothelial growth factor on erythropoietin related endothelial cell production. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1998-2004.
100. CARLINI RG, ALONZO EJ, DOMÍNGUEZ J, BLANCA I, WEISINGER JR, ROTHSTEIN M, BELLORIN-FONT E. Effect of recombinant human erythropoietin on endothelial cell apoptosis. *Kidney Int* 1999; 55: 546-553.

101. NEUSSER M, TEPEL M, ZIDEK W. Erythropoietin increases cytosolic free calcium concentration in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 1233-1236.
102. MORIKAWA K, KURODA M, HASEGAWA T. Is the intracellular calcium-mediated pathway involved in erythropoietin-induced hypertension? *Nephron* 1993; 65: 503-504.
103. GOGUSEV J, ZHU DL, HEREMBERT T, AMMARGUILLAT F, MARCHE P, DRUEKE T. Effects of erythropoietin on DNA synthesis, protooncogene expression and phospholipase C activity in rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Comm* 1994; 199: 977-983.
104. MARRERO MB, VENEMA RC, MA H, LING BN, EATON DC. Erythropoietin receptor-operated  $Ca^{2+}$  channels: activation by phospholipase C-g1. *Kidney Int* 1998; 53: 1259-1268.
105. CARLINI RG, DUSSO AS, OBIALO CI, ÁLVAREZ UM, ROTHSTEIN M. Recombinant human erythropoietin (rhuEPO) increases endothelin-1 release by endothelial cells. *Kidney Int* 1993; 43: 1010-1014.
106. BUEMI M, MORABITO N, PALELLA S et al. Influence of recombinant human erythropoietin on the production of endothelin from human umbilical artery. *Nephron* 1993; 64: 165-166.
107. BODE-BOGER SM, BOGER RH, KUHN M, RADERMACHER J, FROLICH JC. Recombinant human erythropoietin enhances vasoconstrictor tone via endothelin-1 and constrictor prostanoids. *Kidney Int* 1996; 50: 1255-1261.
108. NAGAI T, AKIZAWA T, NAKASHIMA Y, KOHJIRO S, NABESHIMA K, KANAMORI N, TAKAYAMA K, KINUGASA E, KOSHIKAWA S. Effects of rhuEPO on cellular proliferation and endothelin-1 production in cultured endothelial cells. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 1814-1819.
109. VOGEL V, KRAMER HJ, BACKER A, MEYER-LEHNERT H, JELKMANN W, FANDREY J. Effects of erythropoietin on endothelin-1 synthesis and the cellular calcium messenger system in vascular endothelial cells. *Am J Hypertens* 1997; 10: 289-296.
110. LIEFELDT L, SCHMIDT-OTT KM, ORZECZOWSKI HD, DISTLER A, PAUL M. Transcriptional regulation of endothelin-1 by erythropoietin in endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 31 (suppl 1): S 464-S466.
111. CARLINI R, OBIALO CI, ROTHSTEIN M. Intravenous erythropoietin increases plasma endothelin and blood pressure in hemodialysis patients. *Am J Hypertens* 1993; 6: 103-107.
112. TAKAHASHI K, TOTSUNE K, IMAI Y, et al. Plasma concentrations of immunoreactive endothelin in patients with chronic renal failure treated with recombinant human erythropoietin. *Clin Sci* 1993; 84: 47-50.
113. KANG DH, YOON KI, HAN DS. Acute effects of recombinant human erythropoietin on plasma levels of proendothelin-1 and endothelin-1 in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2877-2883.
114. KATOH K, MIZUNO K, HASHIMOTO S. Direct evidence for erythropoietin induced release of endothelin from peripheral vascular tissue. *Life Sci* 1994; 54: PL253-PL259.
115. LÓPEZ-ONGIL SL, SAURA M, LAMAS S, RODRÍGUEZ-PUYOL M, RODRÍGUEZ-PUYOL D. Recombinant human erythropoietin does not regulate the expression of endothelin-1 and constitutive nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Exp Nephrol* 1996; 4: 37-42.
116. ZHOU XJ, PANIDAN D, WANG XQ, VAZIRI ND. Erythropoietin-induced hypertension in rat is not mediated by alterations of plasma endothelin, vasopressin, or atrial natriuretic peptide levels. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 901-905.
117. LAI KN, LAI SF, LEUNG JCK, LAW E, NICHOLLS MG. Effects of subcutaneous and intraperitoneal administration of recombinant human erythropoietin on blood pressure and vasoactive hormones in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephron* 1991; 57: 394-400.
118. LABEL M, KINGMA I, GROSE JH, LANGLOIS S. Hemodynamic and hormonal changes during erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 97-104.
119. HAND ME, HAYNES WG, JOHNSTONE HA, ANDERTON JL, WEBB DJ. Erythropoietin enhances vascular responsiveness to norepinephrine in renal failure. *Kidney Int* 1995; 48: 806-813.
120. KURIYAMA S, HOPP L, YOSHIDA H, HIKITA M, TOMONARI H, HASHIMOTO T, SAKAI O. Evidence for amelioration of endothelial cell dysfunction by erythropoietin therapy in predialysis patients. *Am J Hypertens* 1996; 9: 426-431.
121. MIYAUCHI T, MASAKI T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol* 1999; 61: 391-415.
122. EGGENA P, WILLSEY P, JAMGOTCHIAN N, TRUCKENBROD L, HU MS, BARRET JD, EGGENA MP, CLEGG K, NAKHOUL F, LEE DB. Influence of recombinant human erythropoietin on blood pressure and tissue renin-angiotensin systems. *Am J Physiol* 1991; 261: E642-646.
123. BARRET JD, ZHANG Z, ZHU JH, LEE DB, WARD HJ, JAMGOTCHIAN N, HU MS, FREDAL A, GIORDANI M, EGGENA P. Erythropoietin upregulates angiotensin receptors in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Hypertens* 1998; 16: 1749-57.
124. GIBBONS GH. Endothelial function as a determinant of vascular function and structure: a new therapeutic agent. *Am J Cardiol* 1997; 79(suppl 5A): 3-8.
125. VAUGHAN DE, LAZOS SA, TONG K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. *J Clin Invest* 1995; 95: 995-1001.
126. ONO K, HISABUE Y. The rate of increase in hematocrit, humoral vasoactive substances and blood pressure changes in hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin or blood transfusion. *Clin Nephrol* 1992; 37: 23-27.
127. STEFFEN HM, BRUNNER R, MULLER R, DEGENHARDT S, POLLOK M, LANG R, BALDAMUS CA. Peripheral hemodynamics, blood viscosity, and the renin-angiotensin system in hemodialysis patients under therapy with recombinant human erythropoietin. *Contrib Nephrol* 1989; 76: 292-298.
128. JANDELEIT K, EHMER B, HEINTZ B, GROSS-HEITFELD E, NELSON K, KIRSTEN R, SCIGALLA P, KINDLER J, SIEBERTH. Hormonal and electrolyte changes under regular therapy with recombinant human erythropoietin in hemodialysis patients. *Contrib Nephrol* 1991; 91: 57-60.
129. ROSSI GP, SACCHETTO A, CESARI M, PESSINA AC. Interactions between endothelin-1 and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 300-307.
130. SUGA M, KURIHARA S, IINO Y, TERASHI A. Acute effects of human recombinant erythropoietin on cardiovascu-

- lar dynamics and vasoactive substances. *Nippon Jinzo Gak-kai Shi* 1996; 38: 634-39.
131. XU XC, JOHNS EJ, RICHARDS NT. Relationship between erythropoietin and nitric oxide in the contraction of rat renal arcuate arteries and human umbilical vein endothelial cells. *Clin Sci* 1999; 97: 413-419.
  132. WANG XQ, VAZIRI ND. Erythropoietin depresses nitric oxide synthase expression by human endothelial cells. *Hypertension* 1999; 33: 894-899.
  133. WILCOX CS, DENG X, DOLL AH, SNELLEN H, WELCH WJ. Nitric oxide mediates renal vasodilation during erythropoietin-induced polycythemia. *Kidney Int* 1993; 44: 430-435.
  134. DEL CASTILLO D, RAIJ L, SHULTZ PJ, TOLINS JP. The pressor effect of recombinant human erythropoietin is not due to a decreased activity of the endogenous nitric oxide system. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 505-508.
  135. NI Z, WANG XQ, VAZIRI ND. Nitric oxide metabolism in erythropoietin-induced hypertension: effect of calcium channel blockade. *Hypertension* 1998; 32: 724-729.
  136. VAZIRI ND, ZHOU XJ, NAQUI F, SMITH J, OVEISI F, WANG ZQ, Purdy RE. Role of nitric oxide resistance in erythropoietin-induced hypertension in rats with chronic renal failure. *Am J Physiol* 1996; 271: E113-E122.
  137. BUEMI M, DENUZZO G, ALLEGRA A, ALOISI C, SQUADRITTO F, SQUADRITTO G, DATTOLA A, CORICA F, VERMIGLIO G. Recombinant human erythropoietin inhibits the cutaneous vasodilation induced by acetylcholine. *Int J Microcirc Clin Exp* 1995; 15: 283-286.
  138. LINDE T, FELLSTROM B, LIND L. An intravenous injection of epoetin alfa impairs endothelium-dependent vasodilatation in patients with renal anemia. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1981A.