



# Efecto del tratamiento con eritropoyetina sobre la actividad del sistema nervioso simpático y los receptores $\alpha_2$ -adrenérgicos en pacientes IRCT hemodializados

N. Esforzado, A. Cases, M. Bono, W. Jiménez Povedano\*, J. López-Pedret, F. Rivera-Fillat\* y A. Darnell

Servicio de Nefrología y Laboratorio de Hormonal\*. Hospital Clínic i Provincial. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS).

## RESUMEN

En este trabajo se ha estudiado el efecto del tratamiento con eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO) sobre la actividad del sistema nervioso simpático en los pacientes hemodializados. Se ha determinado la presión arterial, los niveles de catecolaminas plasmáticas y la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos en 9 pacientes hemodializados antes y después de tres meses de tratamiento con rHuEPO. Las catecolaminas plasmáticas se han determinado por radioenzimología. El estudio de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos se ha realizado en plaqueta entera mediante la técnica de «radioligand binding» utilizando [ $^3$ H]-metilyohimbina.

Después de 3 meses de tratamiento, el hematocrito aumentó ( $p < 0,01$ ), como era de esperar, mientras no se observaron cambios significativos en la presión arterial media. Los niveles plasmáticos de catecolaminas aumentaron ( $p < 0,05$ ), mientras que la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos disminuyó ( $p < 0,01$ ) con respecto al estudio pretratamiento con rHuEPO. No se objetivaron cambios en la afinidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos (Kd).

En conclusión, el tratamiento con rHuEPO aumenta la actividad simpática (estimada a través del aumento de los niveles de noradrenalina), e induce secundariamente una «down-regulation» de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos en los pacientes hemodializados. Esta disminución en la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos podría atenuar el esperado aumento de la presión arterial relacionado con el aumento de la actividad simpática asociado a la terapia con rHuEPO.

Palabras clave: **Eritropoyetina. Presión arterial. Receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos. Actividad simpática.**

Recibido: 20-II-98.

En versión definitiva: 22-IX-98.

Aceptado: 4-X-98.

Correspondencia: Dr. Aleix Cases.

Servicio de Nefrología.

Hospital Clínic i Provincial.

Villarroel, 170.

08036 Barcelona.

## EFFECT OF rHuEPO ON THE SYMPATHETIC ACTIVITY AND $\alpha_2$ -ADRENOCEPTORS IN HEMODIALYSIS PATIENTS

### SUMMARY

*This study was undertaken to evaluate the effect of recombinant human erythropoietin (rHuEPO) given for correction of renal anemia, on the sympathetic function in hemodialyzed patients. Blood pressure, plasma catecholamine levels and platelet  $\alpha_2$ -adrenoceptor density were measured in 9 hemodialyzed patients before and after three months on rHuEPO therapy. Plasma catecholamines were measured by a radioenzymatic assay.  $\alpha_2$ -adrenoceptor characteristics were measured in intact platelets by radioligand binding assay using [ $^3$ H]-methylyohimbine.*

*After 3 months of treatment, hematocrit increased ( $p < 0.01$ ), as expected, while mean blood pressure showed non significant changes. Plasma catecholamine levels increased ( $p < 0.05$ ), whereas platelet  $\alpha_2$ -adrenoceptor density decreased ( $p < 0.01$ ) with respect to the control period. No changes in  $\alpha_2$ -adrenoceptor affinity (Kd) were observed.*

*We conclude that rHuEPO treatment increases sympathetic activity which in turn leads to a compensatory down-regulation of  $\alpha_2$ -adrenoceptors in hemodialysis patients. This decrease of  $\alpha_2$ -adrenoceptor density may attenuate the expected blood pressure increase because of the sympathetic activation associated with rHuEPO therapy.*

**Key words: Erythropoietin. Blood pressure.  $\alpha$ -adrenoceptors. Sympathetic activity.**

### INTRODUCCION

La utilización de eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO) para el tratamiento de la anemia secundaria a la insuficiencia renal ha mejorado la calidad de vida de los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) en programa de hemodiálisis (HD). Sin embargo, el tratamiento con rHuEPO puede ocasionar efectos adversos. Uno de los efectos secundarios más comunes descritos en pacientes hemodializados tratados con rHuEPO es la aparición de hipertensión arterial (HTA) o el agravamiento de una HTA ya existente<sup>1,2</sup>.

La patogénesis de la HTA asociada al tratamiento con rHuEPO no está bien aclarada, aunque se ha descrito un aumento en las resistencias vasculares periféricas<sup>3</sup>. Los mecanismos implicados en el aumento de las resistencias vasculares periféricas durante el tratamiento con rHuEPO son: 1) la pérdida de la vasodilatación inducida por la hipoxia después de la corrección de la anemia<sup>4</sup>, 2) el aumento en la viscosidad sanguínea secundaria al aumento de la masa eritrocitaria<sup>5</sup>, 3) un aumento en los niveles plasmáticos de endotelina-1<sup>6,7</sup>, 4) el efecto vasoconstrictor directo de la rHuEPO<sup>8</sup>, o 5) cambios en la actividad del sistema nervioso simpático durante el tratamiento con rHuEPO<sup>9,10</sup>.

Con el fin de determinar el efecto de la terapia con rHuEPO para la corrección de la anemia sobre el sistema nervioso simpático en los pacientes urémicos, evaluamos el efecto de este tratamiento sobre la presión arterial, los niveles plasmáticos de catecolaminas y la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos plaquetarios en pacientes con IRCT en programa de hemodiálisis.

### MATERIAL Y METODOS

Se incluyeron en el estudio nueve pacientes con IRCT hemodializados y con anemia secundaria a la insuficiencia renal. Se trataba de 4 mujeres y 5 hombres, con una edad media de  $43 \pm 22$  años, y un tiempo medio de permanencia en HD de  $2,4 \pm 2$  años (media  $\pm$  DS). Las causas de la insuficiencia renal eran: nefritis intersticial (3), glomerulonefritis crónica (2), nefroangioesclerosis (2) y desconocida (2). Todos los pacientes fueron diagnosticados de anemia secundaria a la insuficiencia renal con niveles de hematocrito repetidamente inferiores al 25% y la presencia de niveles séricos normales o elevados de ferritina.

Ninguno de los pacientes era anéfrico, tenía evidencia de enfermedad cardíaca o pericárdica, o evi-

dencia de otras enfermedades sistémicas, tales como diabetes mellitus o amiloidosis. Todos los pacientes recibían hemodiálisis durante 4 horas tres veces por semana con monitores de ultrafiltración controlada y baño de diálisis con bicarbonato. La medicación recibida se reducía a quelantes del fósforo, vitamina D y suplementos vitamínicos. Todos los pacientes eran normotensos antes de empezar el tratamiento y no recibían tratamiento hipotensor ni vasodilatador.

La eritropoyetina era administrada por vía endovenosa a una dosis inicial de 40 UI/kg de peso después de cada sesión de HD. Si la respuesta no era adecuada, la dosis de rHuEPO se aumentaba 20 UI/kg peso cada 4 semanas, hasta conseguir un nivel de hematocrito entre el 30% y el 35%. La dosis de rHuEPO se reducía a razón de 20 IU/kg peso si el hematocrito excedía del 35%.

La presión arterial, el hematocrito, los niveles plasmáticos de catecolaminas y las características de los receptores plaquetarios  $\alpha_2$ -adrenérgicos se determinaron antes y después de tres meses bajo tratamiento con rHuEPO.

Los estudios se realizaron por la mañana en ayunas entre las 8,00 y las 9,00 horas, antes de iniciar la sesión de hemodiálisis. Previo al estudio, se insertó una cánula en una vena anterocubital para la extracción de la sangre. Después de 45 minutos en reposo en decúbito supino se determinó la presión arterial mediante un esfigmomanómetro de mercurio. La presión arterial se determinó 2 veces con un intervalo de 5 minutos. La presión arterial media (PAM) se calculó como la suma de la presión arterial diastólica y el tercio de la diferencia entre la presión arterial sistólica y diastólica.

La sangre se recogió en tubos conteniendo citrato trisódico 3,5 g/100 ml como anticoagulante, y se centrifugó a 4<sup>o</sup> C. Los niveles plasmáticos de catecolaminas se determinaron por un método radioenzimático seguido de cromatografía en capa fina<sup>11</sup>, utilizando un kit comercial (Cat-a-kit, Amersham Lab, Amersham, United Kingdom) (Valores de normalidad de un grupo control de 17 sujetos sanos: noradrenalina  $225 \pm 18$  [ $1,33 \pm 0,11$  nmol/L], adrenalina  $47 \pm 3,5$  pg/ml [ $0,256 \pm 0,07$  nmol/l] (coeficiente de variación intraensayo 4%, interensayo 10%). A fin de evitar la variación interensayo, las muestras plasmáticas pre y post rHuEPO se guardaron congeladas a  $-20^{\circ}$  C hasta su determinación conjunta utilizando el mismo kit.

El estudio de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos se realizó en plaqueta entera. La sangre se centrifugó a  $200 \times g$  durante 10 minutos para obtener plasma rico en plaquetas (PRP), el cual se lavaba por dos veces mediante centrifugación a  $1.700 \times g$  durante

20 minutos y resuspensión en CCD conteniendo adenosina y teofilina (citrato trisódico 0,1 M, ácido cítrico 7mM, dextrosa 0,14 M, adenosina 5 mM, teofilina 3 mM, pH 6,5), a fin de eliminar el plasma. Finalmente las plaquetas se resuspendieron en tampón HEPES (NaCl 140 mmol/L, KCL 5 mmol/L, HEPES 15 mmol/L, citrato trisódico 5 mmol/L, glucosa 5,5 mmol/L, hirudina 1 u/ml, pH 7,4) y se ajustaron a una concentración final de  $900 \times 10^6$  plaquetas/ml.

Para la reacción de ligado se utilizó el ligando [<sup>3</sup>H]-metilyohimbina (NTR-659, actividad específica 82 Ci/mmol, New England, Du Pont Germany)<sup>12</sup>. La reacción se realizó en 500  $\mu$ l totales conteniendo tampón HEPES con  $9 \times 10^7$  plaquetas a las que se añadieron concentraciones crecientes de [<sup>3</sup>H]-metilyohimbina (entre 0,15 y 10 mM) a 25<sup>o</sup> C durante 1 hora. La reacción finalizó por filtración en filtros de fibra de vidrio de borosilicato (11734, Skatron instruments, Inc, Lier, Norway), en un aparato Cell-Harvester (Skatron Instruments AS, Lier, Norway). Los filtros se lavaron dos veces con tampón HEPES y se depositaron en viales que contenían líquido de centelleo (Optiphase Hifase II, LKB Scintillation Products, Loughborough, Reino Unido), y la radioactividad se midió a través de un contador beta Beckman LS 3801 (Beckman Instruments, Fullerton, Ca, USA).

Se definió como ligado inespecífico aquel no desplazado tras la adición de fentolamina 10  $\mu$ M. Se definió como ligado específico la diferencia entre el ligado total y el ligado inespecífico.

La densidad de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, expresada como sitios de unión por célula, y la constante de disociación (Kd) se calcularon de acuerdo con el método de Scatchard<sup>13</sup>, utilizando el programa LIGAND<sup>14</sup>.

Los datos se expresaron como la media  $\pm$  esm. Para la comparación entre los valores antes y después del tratamiento se utilizó el test de Wilcoxon. Los coeficientes de correlación se calcularon a partir del test de Spearman. Se consideró como significativa una  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

La dosis media de rHuEPO prescrita después de tres meses de tratamiento fue de  $54 \pm 6,3$  UI/kg tres veces a la semana. El peso seco permaneció estable ( $60,1 \pm 1,3$  vs  $59,7 \pm 1,4$  kg,  $p = \text{NS}$ ) durante el tratamiento.

Los cambios en la PAM, el hematocrito, los niveles plasmáticos de catecolaminas y la densidad y afinidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos después del

tratamiento con rHuEPO se muestran en la tabla I. Los niveles de hematocrito aumentaron después de los tres meses del tratamiento con rHuEPO, como era de esperar ( $p < 0,01$ ). La PAM aumentó levemente durante la terapia con rHuEPO, pero las diferencias no fueron significativas. Un paciente desarrolló hipertensión arterial y 3 pacientes tuvieron un aumento de la PAM superior a 5 mmHg.

Los niveles plasmáticos de noradrenalina y adrenalina aumentaron durante el tratamiento con rHuEPO ( $p < 0,05$ ), mientras que la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos disminuyó ( $p < 0,01$ ). No se observaron cambios en la afinidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos (Kd) durante el tratamiento con rHuEPO.

La densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos no mostró correlación con los niveles plasmáticos de adrenalina ni noradrenalina, ni antes ni después del tratamiento con rHuEPO. No se observó ninguna correlación entre la PAM y la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos. Tampoco se observó correlación entre el aumento de los niveles de catecolaminas (adrenalina o noradrenalina) y los cambios en la densidad de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos antes y después del tratamiento.

## DISCUSION

La corrección de la anemia con rHuEPO en los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal sometidos a hemodiálisis puede acompañarse de un aumento de la presión arterial o del agravamiento de una HTA ya existente<sup>1,2</sup>. La incidencia de esta complicación ha sido descrita entre el 30 y el 50%

de los pacientes hemodializados tratados con rHuEPO<sup>2,15</sup>. La aparición de HTA se ha relacionado con un incremento rápido en los niveles de hemoglobina, este efecto puede atenuarse con la utilización de dosis más bajas de rHuEPO<sup>15,16</sup>. Los mecanismos a través de los cuales se produce el incremento de la presión arterial durante el tratamiento con rHuEPO es controvertido. La pérdida del efecto vasodilatador inducido por la hipoxia después de la corrección de la anemia<sup>4</sup>, y/o el aumento en la viscosidad sanguínea que se asocia al aumento de hematíes<sup>5</sup> fueron los factores inicialmente involucrados como relacionados con el aumento de las resistencias vasculares periféricas durante el tratamiento con rHuEPO. A pesar del efecto vasoconstrictor directo de la rHuEPO en la arteria renal descrito en estudios *in vitro*<sup>17</sup>, el efecto vasoconstrictor directo *in vivo* de esta hormona no ha sido demostrado<sup>18</sup>.

Existen diferentes opiniones sobre el efecto del tratamiento con rHuEPO sobre la actividad simpática. Mientras algunos investigadores han encontrado un incremento en los niveles plasmáticos de catecolaminas durante el tratamiento con rHuEPO<sup>9,10,19</sup>, otros no han observado cambios<sup>20</sup>, o incluso una disminución en los niveles plasmáticos de catecolaminas<sup>3,21,22</sup>. Estas discrepancias pueden obedecer a diferencias en las dosis utilizadas y en el tiempo de evaluación entre los estudios, así como a diferencias metodológicas en la determinación de los niveles plasmáticos de catecolaminas (catecolaminas totales o libres, método radioenzimático o cromatografía líquida de alta resolución). Fritschka y cols.<sup>9</sup> describieron un aumento en la presión arterial diastólica y en los niveles plasmáticos de norepinefrina durante el tratamiento con rHuEPO, mientras que la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos y la respuesta vascular  $\alpha$ -adrenérgica (valorada a través de la respuesta presora la noradrenalina exógena) disminuyeron, cuando se compararon los valores antes y después del tratamiento. El aumento de los niveles plasmáticos de catecolaminas durante el tratamiento con rHuEPO sugiere un aumento en la actividad simpática<sup>9</sup>. En este sentido, la actividad de la dopamina- $\beta$ -hidroxilasa, un índice de actividad del sistema nervioso simpático, se ha descrito que aumenta durante el tratamiento con rHuEPO<sup>23</sup>. Contrariamente, Converse y cols. no observaron diferencias en la descarga simpática postináptica en nervio peroneo entre pacientes que recibían eritropoyetina y aquellos que no la recibían, aunque en este estudio no se analizó prospectivamente el efecto de la rHuEPO sobre la actividad simpática. Debe destacarse asimismo que en este último estudio algunos de sus pacientes recibían tratamiento hipotensor, lo que podría alterar la descarga simpática. Los cambios en

**Tabla I.** Presión arterial media, hematocrito, catecolaminas plasmáticas y características de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, antes y después de 3 meses del tratamiento con rHuEPO en los pacientes hemodializados

	PRE rHuEPO	POST rHuEPO
Presión arterial media (mmHg)	81,5 $\pm$ 9	88 $\pm$ 9
Hematocrito (%)	23 $\pm$ 0,6	30 $\pm$ 0,7**
Noradrenalina plasmática (pg/ml)	329 $\pm$ 51	437 $\pm$ 47*
(nmol/L)	1.944 $\pm$ 0,3	2,58 $\pm$ 0,27
Adrenalina plasmática (pg/ml)	93 $\pm$ 6	161 $\pm$ 10*
(nmol/L)	0,51 $\pm$ 0,03	0,88 $\pm$ 0,05
Densidad rec. $\alpha_2$ -adrenérgicos (receptores/plaquetas)	187 $\pm$ 24	149 $\pm$ 17,7**
Afinidad receptor $\alpha_2$ -adrenérgico (Kd) (nM)	0,92 $\pm$ 0,13	0,87 $\pm$ 0,13

\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  respecto a los valores pre-rHuEPO. Media  $\pm$  esm.

la actividad simpática durante el tratamiento con rHuEPO no parecen estar relacionados con un efecto directo de la hormona sobre el sistema nervioso simpático, ya que el aumento en los niveles plasmáticos de catecolaminas no se ha observado al inicio del tratamiento con rHuEPO, pero sí en el curso del mismo<sup>18,19</sup>. Probablemente, cuando el hematocrito aumenta, el volumen plasmático tiende a disminuir debido al aumento de la masa eritrocitaria total<sup>22</sup>. La disminución del volumen plasmático podría conducir a un aumento de la actividad simpática y, secundariamente, en la concentración plasmática de noradrenalina. El aumento de los niveles plasmáticos de catecolaminas puede a la vez producir una «down-regulation» compensadora de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos.

Este estudio confirma nuestras observaciones previas en las que los niveles plasmáticos de catecolaminas están elevados mientras que la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos es normal en los pacientes hemodializados<sup>24</sup>. Además, nuestro estudio confirma las observaciones previas aportadas por Fritschka<sup>9</sup> de que los niveles plasmáticos de noradrenalina aumentan y la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos disminuye durante el tratamiento con rHuEPO. A diferencia de Fritschka y cols., nosotros utilizamos plaquetas intactas en lugar de membranas plaquetarias para evaluar los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos. Ello permite determinar los receptores que están presentes en la superficie de la membrana y por ello son susceptibles de ligarse al agonista, mientras que la determinación en membrana mide tanto los receptores en superficie, como aquellos que están internalizados y no susceptibles de ligarse al agonista. La falta de un incremento significativo de la presión arterial media en nuestro estudio, a pesar del aumento de los niveles de catecolaminas puede ser debido (al menos en parte) a una disminución compensadora del número y función de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos. En este sentido, Fritschka y cols.<sup>9</sup> demostraron que la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos y la respuesta vascular a la noradrenalina estaba reducida durante el tratamiento con rHuEPO. Sin embargo, más recientemente Hand y cols.<sup>25</sup> han descrito que el tratamiento con eritropoyetina aumenta la respuesta vascular a la administración intraarterial de norepinefrina en arteria braquial. Estas diferencias pueden atribuirse a diferencias metodológicas, ya que mientras en el primer estudio se estudió el efecto presor sistémico de norepinefrina, en el segundo estudio se valoró el efecto local de la infusión intraarterial de norepinefrina sobre un territorio vascular concreto (arteria braquial). Curiosamente, en este último estudio los cambios en la respuesta vascular a la noradrenalina

en la arterial con rHuEPO no se correlacionaron ni con los cambios de presión arterial, ni lo que es más sorprendente con los cambios en las resistencias vasculares periféricas. Finalmente, queremos destacar que el estudio de Hand se realizó a las 6 y 12 semanas, observándose que la respuesta vascular a la infusión de norepinefrina aumentaba significativamente a las 6 semanas, pero no a las 12 semanas. Nuestro estudio se realizó a las 12 semanas y el de Fritschka a 6 meses de tratamiento. Aunque nuestro estudio adolece de la ausencia de un grupo control que no recibiera rHuEPO, en el estudio de Fritschka y cols.<sup>9</sup> no observaron diferencias significativas a los seis meses en los niveles plasmáticos de norepinefrina y características de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos en su grupo control seguido durante 6 meses, sugiriendo que los cambios observados son atribuibles al tratamiento con rHuEPO.

En conclusión, este estudio sugiere que el tratamiento con rHuEPO induce un aumento en la actividad simpática y una disminución compensadora en la densidad de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos en los pacientes urémicos. Esta «down-regulation» de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, y probablemente la disminución de la respuesta  $\alpha$ -adrenérgica, puede atenuar el esperado incremento de la presión arterial secundario a la activación simpática.

## BIBLIOGRAFIA

1. Eschbach JW, Adamson JW: Recombinant human erythropoietin: implications for nephrology. *Am J Kidney Dis* 11: 203-209, 1988.
2. Teruel JL, Pascual J, Ortuño J: Efectos cardiovasculares de la eritropoyetina. *Nefrología* 13: (Supl. 4): 41-44, 1993.
3. Hori K, Onoyama K, Iseki K, Fujimi S, Fujishima M: Hemodynamic and volume changes by recombinant human erythropoietin (rHuEPO) in the treatment of anemic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 33: 293-298, 1990.
4. Neff MS, Kim KE, Persoff M, Onesti G, Swartz CH: Hemodynamics of uremic anemia. *Circulation* 43: 876-883, 1971.
5. Steffen HM, Brunner R, Müller R: Peripheral hemodynamics, blood viscosity, and the renin-angiotensin system in hemodialysis patients under therapy with recombinant human erythropoietin. *Contrib Nephrol* 76: 2292-2298, 1989.
6. Takayama K: Changes in endothelial vasoactive substances and blood coagulation and fibrinolysis functions under recombinant human erythropoietin in hemodialysis patients. *Jpn J Nephrol* 35: 179-188, 1993.
7. Carlini R, Obialo CI, Rothstein M: Intravenous erythropoietin administration increases plasma endothelin and blood pressure in hemodialysis patients. *Am J Hypertens* 6: 103-107, 1993.
8. Heidenreich S, Rahn KH, Zidek W: Direct vasopressor effect of recombinant human erythropoietin on renal resistance vessels. *Kidney Int* 39: 259-265, 1991.
9. Fritschka E, Neumayer HM, Seddighi S, Thiede HM, Distler A, Philipp TH: Effect of erythropoietin on parameters of sym-

- pathetic nervous activity in patients undergoing chronic haemodialysis. *Br J Clin Pharmacol* 30: 135S-138S, 1990.
10. Jandeleit K, Heintz B, Gross-Heitfeld E, Kindler J, Sieberth HG, Kirsten R, Nelson K: Increased activity of the autonomic nervous system and increased sensitivity to angiotensin II infusion after therapy with recombinant human erythropoietin. *Nephron* 56: 220-221, 1990.
  11. Peuler JD, Johnson GA: Simultaneous single isotope radioenzymatic assay of plasma norepinephrine, epinephrine and dopamine. *Life Sci* 21: 625-636, 1977.
  12. Macfarlane DE, Wright BL, Stump DC: Use of [methyl-<sup>3</sup>H]yohimbine as a radioligand for alpha-2 adrenoceptors on intact platelets. Comparison with dihydroergocryptine. *Thromb Res* 24: 31-43, 1981.
  13. Scatchard G: The attraction of proteins for small molecules and ions. *Am NY Acad Sci* 51: 660-672, 1949.
  14. Munson PJ, Rodbard D: Ligand: a versatile computerized approach for characterization of ligand-binding systems. *Analytical Biochem* 107: 220-239, 1980.
  15. Kokot F, Wiecek A: Arterial hypertension in uraemic patients treated with erythropoietin. *Nephron* 71: 127-132, 1995.
  16. Canadian Erythropoietin Study Group. Effect of recombinant human erythropoietin therapy on blood pressure in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 11: 23-26, 1991.
  17. Bode-Böger SM, Böger RH; Kuhn M, Radermacher J, Frölich JC: Endothelin release and shift in prostaglandin balance are involved in the modulation of vascular tone by recombinant human erythropoietin. *J Cardiovasc Pharmacol* 20 (Supl. 12): S25-S28, 1992.
  18. Akpolat T, Arik N, Demirkan F, Basci NE, Özkan Y, Isimer A, Yasavul Ü, Turgan C, Caglar S: Acute effect of erythropoietin on catecholamine levels in uremia. *Nephron* 64: 329-330, 1993.
  19. Torralbo A, Herrero JA, Portolés J, Fontanellas A, Barrientos A: Activation of the sympathetic nervous system in hemodialyzed patients treated with erythropoietin. *Nephron* 69: 350, 1995.
  20. Ono K, Hisasue Y: The rate of increase in hematocrit, humoral vasoactive substances and blood pressure changes in hemodialyzed patients treated with recombinant human erythropoietin or blood transfusion. *Clin Nephrol* 37: 23-27, 1992.
  21. Kokot F, Wiecek A, Schmidt-Gayk H, Marcinkowski W, Gilge U, Heidland A, Rudka R, Trembecki J: Function of endocrine organs in hemodialyzed patients of long-term erythropoietin therapy. *Artif Organs* 19: 428-435, 1995.
  22. Cannella G, La Canna G, Sandrini M, Gaggiotti M, Nordio G, Movilli E, Maiorca R: Renormalization of high cardiac output and of left ventricular size following long-term recombinant human erythropoietin treatment of anemic dialyzed uremic patients. *Clin Nephrol* 34: 272-278, 1990.
  23. Suwata J, Maeda H, Ohmori N, Ohwa M, Ohtsuka H, Shimoyama H: Recombinant human erythropoietin therapy and autonomic nervous system. *Nephron* 61: 115-116, 1992.
  24. Esforzado N, Cases A, Bono M, Gaya J, Calls J, Rivera-Fillat F: Autonomic nervous system and adrenergic receptors in chronic hypotensive hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 12: 939-944, 1997.
  25. Hand MF, Haynes WG, Johnstone HA, Anderton JL, Webb DJ: Erythropoietin enhances vascular responsiveness to norepinephrine in renal failure. *Kidney Int* 48: 806-813, 1995.



En el mes de Noviembre de 1998 quedó instalada la página **WEB LÁCER**, en la cual tiene especial mención la historia de LÁCER S.A., el área de I+D, la División Farmacéutica, la División Personal Health, la División Industrial y la División Internacional.

Es intención de la compañía mantener la citada Web en permanente actualización, dando el mejor servicio posible tanto a la comunidad médica como al consumidor final que consulte su Web.

