



Eritropoyetina: plaquetas y endotelio

A. Cases, M. Díaz-Ricart*, J. C. Reverter*, D. Tassies*, G. Escolar*

Servicios de Nefrología, Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clinic i Universitari. IDIBAPS**. Barcelona.

INTRODUCCION

El tratamiento con eritropoyetina recombinante humana (rHuEPO) es efectivo en el tratamiento de la anemia en la insuficiencia renal crónica. A pesar de su eficacia existe una preocupación continuada respecto a sus posibles efectos secundarios sobre el sistema cardiovascular, el desarrollo o agravamiento de una hipertensión o un posible aumento del riesgo de fenómenos trombóticos.

Existen controversias respecto a si el tratamiento con rHuEPO favorece la trombosis de los accesos vasculares. Mientras algunos autores observan un aumento de trombosis de accesos vasculares, otros autores no encuentran esta asociación (ver revisiones en 1 y 2). Estudios posteriores parecen sugerir que el tratamiento con rHuEPO incrementaría el riesgo de trombosis en prótesis vasculares, pero no en fístulas arteriovenosas nativas³. Un estudio prospectivo con un seguimiento de 3 años publicado recientemente ha demostrado que el tratamiento con rHuEPO a largo plazo no aumenta el riesgo de estenosis progresiva de fístulas arteriovenosas nativas⁴, confirmando observaciones previas. Por otro lado, aunque en un estudio retrospectivo se describió un aumento significativo del riesgo de enfermedad cardiovascular con el tratamiento con rHuEPO⁵, otros estudios han descrito una reducción del riesgo cardiovascular tras la corrección de la anemia con rHuEPO⁶⁻⁸. También se ha observado un aumento de las necesidades de heparina durante la hemodiálisis a fin de evitar la coagulación del dializador⁹. Por todo ello, todavía existen discrepancias sobre si el tratamiento con rHuEPO se asocia a un estado protrombótico.

Entre los mecanismos que se han implicado como causantes de este hipotético estado protrombótico asociado al tratamiento con rHuEPO se han descrito: el aumento del hematocrito y de la viscosidad sanguínea, aumentos del recuento plaquetario, de

las actividades del factor VIII y de fibrinógeno, alteraciones de la fibrinólisis o la mejora del funcionamiento plaquetario^{1,2}. Moia y cols., describieron por vez primera que la corrección de la anemia con eritropoyetina normalizaba el tiempo de sangría en la gran mayoría de pacientes y mejoraba la interacción plaqueta-subendotelio en estudios de perfusión *ex vivo*. Los mismos autores observaron que el tiempo de sangría se relacionaba inversamente con los valores de hematocrito¹⁰, sugiriendo que la anemia presente en la insuficiencia renal crónica jugaba un papel importante en la alteración de la hemostasia primaria descrita en estos pacientes, confirmando estudios previos en los que la administración de hematíes lavados en pacientes urémicos acortaban el tiempo de sangría y que esta mejora se relacionaba con el aumento del hematocrito en estos pacientes^{11,12}. Sin embargo, estudios posteriores han demostrado, que aunque el tiempo de sangría se acortaba con el tratamiento con rHuEPO, éste no se normalizaba en todos los pacientes^{13,14}, lo que indicaría que la anemia no es el único mecanismo implicado en la diátesis hemorrágica presente en la uremia. Además, se ha descrito que la hemostasia primaria mejora con el tratamiento con rHuEPO aún antes de observarse un aumento del hematocrito^{13,15,16}, indicando que los efectos beneficiosos de la eritropoyetina sobre la hemostasia primaria no se limitan al aumento del hematocrito. A continuación se revisan los principales cambios descritos por el tratamiento con rHuEPO a nivel plaquetario y endotelial y sus posibles implicaciones clínicas.

EFFECTOS DE RHUEPO SOBRE LAS PLAQUETAS

Estudios *in vivo* han demostrado que la eritropoyetina posee un cierto efecto sobre la serie megacariocítica¹⁶. Se han descrito aumentos transitorios del número de plaquetas durante el tratamiento con rHuEPO^{15,18,19}, aunque la significación clínica de estos aumentos en la mejora de la hemostasia primaria en la uremia es dudosa y en todo caso sólo justificarían un aumento del riesgo trombótico al inicio del tratamiento. Asimismo, numerosos autores han descrito una mejora de la función plaqueta-

Correspondencia: Dr. Aleix Cases
Servicio de Nefrología
Hospital Clinic
Villarroel, 170
08036 Barcelona

**IDIBAPS: Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer.

ria^{13,14,18-24}, aunque no existe total unanimidad al respecto²⁵⁻²⁷. Un aspecto interesante es la mejoría de la función plaquetaria durante el tratamiento con rHuEPO es específico de esta hormona, ya que el aumento del hematocrito mediante transfusión de sangre no mejora la reactividad plaquetaria²⁴. Sin embargo, esta mejoría también parece ser transitoria¹⁸. Por otro lado, la adición *in vitro* de rHuEPO no afecta la agregabilidad plaquetaria, sugiriendo que los efectos de la rHuEPO sobre las plaquetas se realizarían a nivel del megacariocito^{13,21,28}.

Nuestro grupo describió por vez primera una mejoría de la interacción plaqueta-subendotelio y un aumento precoz de la agregación plaquetaria *in vitro* en pacientes hemodializados tratados con rHuEPO durante una semana¹³, antes de observarse un aumento del hematocrito. Estudios posteriores han demostrado un acortamiento del tiempo de sangría en pacientes tratados con rHuEPO antes de observarse un aumento del hematocrito^{15,16}. Ello indica que los efectos de la eritropoyetina sobre la hemostasia primaria son, al menos en parte, independientes del aumento del hematocrito y debidos a una mejora del trastorno plaquetario presente en la uremia. A continuación se revisarán aquellos mecanismos potencialmente implicados en la mejora de esta trombopatía con rHuEPO.

Algunos autores han descrito un aumento de la movilización de calcio intracelular en plaquetas^{18,29,30}, aunque otros estudios no han observado estas modificaciones^{31,32}. El incremento en la movilización de calcio intracelular podría favorecer la hiperagregabilidad plaquetaria. Sin embargo, las discrepancias entre los estudios no permiten conclusiones definitivas. Estas diferencias podrían ser debidas a la diferente vía de administración de la rHuEPO utilizada (endovenosa o subcutánea) o a diferencias metodológicas entre los estudios.

Sharpe y cols., describieron en un estudio retrospectivo un aumento del volumen plaquetario medio tras el tratamiento con rHuEPO, sugiriendo que esta hormona juega un papel en la trombopoyesis. Es un hecho aceptado que las plaquetas con mayor volumen son más reactivas y podrían contribuir al incremento del riesgo trombótico asociado con rHuEPO³³. Estos resultados se han visto recientemente confirmados en parte por nuestro grupo. En un estudio prospectivo utilizando citometría de flujo y naranja de tiazol para determinar el número de plaquetas reticuladas observamos que el tratamiento con rHuEPO aumenta de forma precoz el número de plaquetas reticuladas, que son más jóvenes y metabólicamente más activas³⁴. En un estudio experimental se ha descrito que la administración de eritropoyetina a dosis suprafarmacológicas (500 U/kg/día,

sb) durante 5 días en perros aumentaba en 2,7 veces el número de plaquetas reticuladas. Los mismos autores demostraron que estas plaquetas eran hiperreactivas respecto a plaquetas reticuladas obtenidas de animales control. Todo ello indica que el tratamiento con eritropoyetina no sólo promueve la producción de plaquetas reticuladas, sino que además estas son hiperreactivas³⁵, lo que podría favorecer la trombogenicidad. En este sentido, los mismos autores han descrito un aumento de la trombogenicidad en perros tratados con rHuEPO en un modelo de trombosis de fístula arteriovenosa³⁶.

En las plaquetas urémicas se han descrito alteraciones cuantitativas y cualitativas de los receptores que median la adhesión (GPIb) y la agregación plaquetarias (GPIIb/IIIa) (revisado en 37). Se ha descrito un aumento del número de GPIb, el receptor para el factor von Willebrand y que media la adhesión plaquetaria, durante el tratamiento con rHuEPO³⁸, aunque no se han observado cambios en la expresión de receptores de fibrinógeno (GPIIb/IIIa) y glicoproteína IIb (GPIIb) con el tratamiento con eritropoyetina³⁸; ni se han descrito diferencias en el *binding* 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, sugiriendo que las alteraciones de los cambios conformacionales de la GPIIb/IIIa descritas en la uremia no se corrigen con la rHuEPO⁴⁰. Otros autores han descrito que en la uremia la composición de fosfolípidos plaquetarios está alterada y que el tratamiento con eritropoyetina normaliza parcialmente la composición de fosfolípidos de membrana⁴¹, aunque la significación clínica de estos cambios es desconocida. Finalmente, nuestro grupo ha descrito que la incorporación de proteínas al citoesqueleto plaquetario y la fosforilación de la tirosina en lisados de plaquetas están disminuidas en plaquetas de pacientes con IRC no tratados con eritropoyetina. Tras el tratamiento con eritropoyetina mejoraba la asociación de proteínas al citoesqueleto plaquetario con una mejora de los procesos de fosforilación de tirosina de proteínas asociadas al citoesqueleto (a niveles incluso superiores a los descritos en plaquetas de controles sanos). Nuestros resultados sugieren que la eritropoyetina aumenta la transducción de señales intraplaquetaria en plaquetas urémicas⁴².

EFFECTOS DE LA RHUEPO SOBRE EL ENDOTELIO

Aunque los efectos de la rHuEPO sobre el funcionalismo plaquetario han sido estudiados exhaustivamente, los efectos de esta hormona sobre el en-

dotelio no están todavía totalmente dilucidados. Anagnostou y cols., describieron la presencia de receptores de eritropoyetina y su mRNA en células endoteliales, así como que la rHuEPO indique la proliferación y migración de células endoteliales^{43,44}.

Posteriormente otros autores han confirmado que la rHuEPO estimula directamente la proliferación de células endoteliales en cultivo y aumentan la liberación de endotelina-1^{45,46}. Más recientemente se ha descrito que la rHuEPO a dosis suprafarmacológicas favorece la angiogénesis *in vitro*⁴⁷. Este efecto parece mediado, al menos en parte, a través de la liberación autocrina de endotelina-1. Bode-Boger y cols., han demostrado que la incubación de segmentos arteriales de conejo y de células endoteliales en cultivo en presencia de rHuEPO aumentaba la liberación de endotelina, así como de los prostanoides vasoconstrictores PGF_{2α} y tromboxano B2, y disminuía la formación de prostaciclina⁴⁸. Por otro lado, la rHuEPO no parece alterar la síntesis y liberación de óxido nítrico^{48,49}. Se ha descrito que los niveles plasmáticos de otros factores derivados del endotelio aumentan con el tratamiento con rHuEPO, aunque existen discrepancias. Así, se han descrito aumentos^{14,20,22,23,50} o niveles estables de factor Von Willebrand antigénico o de su actividad (cofactor ristocetina)^{24,51,52}. Sin embargo, no puede dilucidarse a partir de estudios *in vivo* que estos cambios sean debidos a un efecto directo de la rHuEPO o a un incremento del stress de cizallamiento (shear stress) sobre la célula endotelial⁵². Algunos autores han descrito aumentos del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1)^{23,54}, aunque otros autores no han confirmado estos hallazgos^{19,27,52}. Sin embargo, los cambios observados en la fibrinólisis podrían ser secundarios a cambios en la coagulación. Más recientemente, se ha demostrado que la rHuEPO estimula la producción *in vitro* del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), pero no de factor Von Willebrand, en células endoteliales en cultivo, sugiriendo que esta hormona ejerce un efecto directo sobre el endotelio aumentando la liberación de PAI-1 pero no de factor Von Willebrand⁵⁵.

Estudios recientes sugieren que el tratamiento con rHuEPO mejora la disfunción endotelial en la uremia. Así, se ha observado que los pacientes urémicos prediálisis presentaban unos niveles elevados de tromboomodulina y endotelina-1 respecto a los controles sanos y que el tratamiento con rHuEPO disminuye los niveles circulantes de PDGF y la molécula de adhesión VCAM-1, sugiriendo una mejoría del funcionalismo plaquetario y la disfunción endotelial⁴. El stress oxidativo se ha descrito como un factor importante en el desarrollo de disfunción endotelial y aterogénesis⁵⁷. Un estudio transversal publicado recientemente ha demostrado que la generación de radicales libres, esti-

mada mediante la determinación de niveles malondialdehído (MDA) o 4-hidroxinonenal (HNE), dos productos de peroxidación lipídica (POL), estaba aumentada en pacientes hemodializados. Este aumento era superior en pacientes con hemoglobina < 10 g/dl, que en pacientes con hemoglobina > 10 g/dl no tratados con rHuEPO o en pacientes tratados con rHuEPO. Los mismos autores observaron una correlación inversa entre niveles de hemoglobina y concentraciones plasmáticas de productos de POL. Estos resultados sugieren que la generación aumentada de radicales libres en pacientes hemodializados podría estar causada en parte por la anemia y que el tratamiento con rHuEPO puede reducir la generación de radicales libres al aumentar el número de hematíes y los niveles sanguíneos de hemoglobina. Ello podría deberse a que la anemia se asocia a un déficit de glutatión reducido y de enzimas capaces de metabolizar productos aldehídicos de peroxidación lipídica⁵⁸. Sin embargo, estos resultados de la rHuEPO sobre el stress oxidativo no han sido corroborados en un estudio longitudinal⁵⁹.

CONCLUSIONES

De los datos revisados se puede concluir que 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. Aunque los efectos de la rHuEPO *in vitro* sobre el endotelio son complejos y parecen 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 de la rHuEPO y de la corrección de la anemia sobre la función endotelial merecerían ser objeto de estudios más profundos, especialmente sobre el balance de la hemostasia.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado en parte gracias a las ayudas del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social FIS 98/0550 y FIS 98/0231 y beca CIRIT SGR 97/133.

BIBLIOGRAFIA

1. Eschbach JW: Erythropoietin is not a cause of access thrombosis. *Semin Dial* 6: 180-184, 1993.
2. Muirhead N: Erythropoietin is a cause of access thrombosis. *Semin Dial* 6: 184-188, 1993.

3. Churchill DN, Muirhead N, Goldstein M, Posen G, Fay W, Beecorft ML, Gorman G, Taylor DE: Probability of thrombosis of vascular access among hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *J Am Soc Nephrol* 4: 1809-1813, 1994.
4. De Marchi S, Cecchin E, Falletti E, Giacomello R, Stel G, Sepiacchi G, Bortolotti N, Zanella F, Gonano F, Bartoli E: Long-term effects of erythropoietin therapy on fistula stenosis and plasma concentrations of PDPGF and MCP-1 in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 8: 1147-1156, 1997.
5. Iseki K, Nishime K, Uehara H, Tokuyama K y cols.: Increased risk of cardiovascular disease with erythropoietin in chronic dialysis patients. *Nephron* 72: 20-36, 1996.
6. Eschbach JW, Aquilino T, Haley NR, Fan MH, Blagg CR: The long-term effects of recombinant human erythropoietin on the cardiovascular system. *Clin Nephrol* 38 (supl. 1): S98-S93, 1992.
7. Bajo MA, Selgas R, Castro MJ, Jiménez C, Fernández-Reyes MJ, del Peso G, de Alvaro F, Sánchez-Sicilia AL: Erythropoietin treatment decreases cardiovascular morbidity and mortality in CAPD patients. *Perit Dial Int* 17: 129-135, 1997.
8. 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* 13: 1642-1644, 1998.
9. 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* 51: 299-318, 1996.
10. 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* II: 1227-1229, 1987.
11. 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* II: 1013-1015, 1982.
12. 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* 59: 139-148, 1985.
13. Cases A, Escolar G, Reverter JC, Ordinas A, López-Pedret J, Revert L, Castillo R: Recombinant human erythropoietin improves platelet function in uremic patients. *Kidney Int* 42: 668-672, 1992.
14. Akizawa T, Kinagusa E, Kitaoka T, Koshikawa: Effects of recombinant human erythropoietin and correction of anemia on platelet function in hemodialysis patients. *Nephrol* 58: 400-406, 1991.
15. Malyszko J, Malyszko JS, Borawki J, Rydzewski A, Kalinowski M, Azzadin A, Mysliwiec M, Buczek W: A study of platelet functions, some hemostatic and fibrinolytic parameters in relation to serotonin in hemodialyzed patients under erythropoietin therapy. *Thromb Res* 77: 133-143, 1995.
16. 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* 55: 197-201, 1992.
17. Fraser JK, Tan AS, Lin FK, Berridge MV: Expression of specific high-affinity binding sites for erythropoietin on rat and mouse megakaryocytes. *Exp Haematol* 17: 10-16, 1989.
18. Van Geet C, Van Damme-Lombaerts R, Vanrusselt M, de Mol A, Proesmans W, Vermeylen J: Recombinant human erythropoietin increases blood pressure, platelet aggregability and platelet free calcium mobilisation in uremic children: a possible link? *Thromb Hemost* 64: 7-10, 1990.
19. 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* 38: 277-282, 1992.
20. 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* 66: 638-647, 1991.
21. El Shahaby MA, Francis R, Massry SG: Recombinant human erythropoietin shortens the bleeding time and corrects the abnormal platelet aggregation in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 41: 308-313, 1994.
22. Huraib S, 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* 36: 252-257, 1991.
23. Taylor JE, Belch JFF, McLaren M, Henderson IS, Stewart WK: Effect of erythropoietin and withdrawal on blood coagulation and fibrinolysis in hemodialysis patients. *Kidney Int* 44: 182-190, 1993.
24. 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* 8: 213-217, 1993.
25. Gordge MP, Leaker B, Patel A y cols.: Recombinant human erythropoietin shortens the uremic bleeding time without causing intravascular hemostatic activation. *Thromb Res* 57: 171-182, 1990.
26. 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* 21: 31-37, 1993.
27. Stenver D, Jeppesen L, Nielsen B, Dalsgaard Nielsen J, Hadersdal C, Mehlsen J, Winther K: The effect of erythropoietin on platelet function and fibrinolysis in chronic renal failure. *Int J Artif Organs* 17: 141-145, 1994.
28. Taylor JE, Belch JJ, Henderson IS, Stewart WK: Erythropoietin does not increase whole-blood platelet aggregation in vitro. *Nephrol Dial Transplant* 9: 556-558, 1994.
29. Ishiguro N: Effects of recombinant human erythropoietin on cytosolic free calcium concentration in platelets. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 36: 250-258, 1994.
30. Schiff 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* 15: 343-348, 1992.
31. Lo Cascio C, Guzzo P, Loschiavo C, Manzato F, Lechi C: Platelet intracellular calcium is not modified by subcutaneous administration of erythropoietin. *Thromb Haemost* 72: 326-327, 1994.
32. Fluck RJ, Roger SD, McMahon AC, Raine AE: Modulation of platelet cytosolic calcium during erythropoietin therapy in uremia. *Nephrol Dial Transplant* 9: 1109-1114, 1994.
33. Sharpe PC, Desai ZR, Morris TC: Increase in mean platelet volume in patients with chronic renal failure treated with erythropoietin. *J Clin Pathol* 47: 159-161, 1994.
34. 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* 59: 105-109, 1998.
35. Wolf RF, Peng J, Friese P, Gilmore LS, Burnstein SA, Dale GL: Erythropoietin administration increases production and reactivity of platelets in dogs. *Thromb Haemost* 78: 1505-1509, 1997.
36. Wolf RF, Gilmore LS, Fiese P, Downs T, Burstein SA, Dale GL: Erythropoietin potentiates thrombus development in a ca-

A. CASES y cols.

- nine arterio-venous shunt model. *Thromb Haemost* 77: 1020-1024, 1997.
37. Cases A, Escolar G: Diatesis hemorrágica en la uremia. *Nefrología* 18: 270-282, 1998.
 38. Liani M, Salvati F, Nuvile G, Tresca E, Velussi C, Midrio M: Von Willebrand factor and rise in ristocetin co-factor with erythropoietin. *Lancet* 341: 1221, 1993.
 39. Krzeslowska J, Rysz J, Cierniewski CS, Luciak M: Expression of fibrinogen receptors and GPIIb molecules on uraemic platelets: effect of recombinant human erythropoietin therapy. *Nephrol Dial Transplant* 10: 653-656, 1995.
 40. Gawaz MP, Dobos G, Späth M, Schollmeyer P, Gurland HJ, Mujais SK: Impaired function of platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 5: 36-46, 1994.
 41. Krawczyk W, Dmoszynska A, Marczewski K, Ledwozyw A: Human erythropoietin improves blood platelet phospholipid composition in chronically hemodialyzed patients. *Exp Nephrol* 3: 265-266, 1995.
 42. Cases A, Díaz-Ricart M, Estebanell E, Escolar G, López-Pedret J: Effect of recombinant human erythropoietin on platelet signalling in uremic patients. XXXV Congress of the European Renal Association European Dialysis and Transplant Association 339A, 1998.
 43. 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* 87: 587-591, 1990.
 44. 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* 91: 3974-3978, 1994.
 45. Carlini RG, Dusso AS, Obialo CI, Alvarez UM, Rothstein M: Recombinant human erythropoietin (rHuEPO) increases endothelin-1 release by endothelial cells. *Kidney Int* 43: 1010-1014, 1993.
 46. 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* 10: 1814-1819, 1995.
 47. Carlini RG, Reyes AA, Rorhstien M: Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis in vitro. *Kidney Int* 47: 740-745, 1995.
 48. 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* 50: 1255-1261, 1996.
 49. 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* 4: 37-42, 1996.
 50. Taylor JE, Belch JFF, McLaren M, Stewart WK: Effect of nifedipine on changes in fibrinogen and von Willebrand factor in haemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Blood Coag Fibrin* 6: 100-104, 1995.
 51. McDougall IC, Davies ME, Hallet I y cols.: Coagulation studies and fistula blood flow during erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 6: 862-867, 1991.
 52. 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 fibrinólisis. *Nefrología* 14: 87-91, 1994.
 53. Reinhart WH: Shear-dependence of endothelial functions. *Experientia* 15: 87-93, 1994.
 54. Aunsholt NA, Ahlbom G, Steffensen G, Glud T: Fibrinolytic capacity in hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Nephron* 62: 284-288, 1992.
 55. Nagai T, Akizawa T, Kohjiro S, Koiwa F, Nabeshima K, Nii-kura K, Kino K, Kanamori N, Kinugasa E, Ideura T: rHuEPO enhances the production of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. *Kidney Int* 50: 102-107, 1996.
 56. 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* 9: 426-431, 1996.
 57. Halliwell B: The role of oxygen radicals in human disease with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 29 (supl. 1): 118-126, 1993.
 58. Sommerburg O, Grune T, Hapml H, Riedel W, Van Kuijk FJMG, Ehrich JHH, Siems WG: Does long-term treatment of renal anemia with recombinant erythropoietin influence oxidative stress in hemodialysed patients? *Nephrol Dial Transplant* 13: 2583-2587, 1998.
 59. Cavdar C, Camsari T, Semin I, Gonenc S, Acikgoz O: Lipid peroxidation and antioxidant activity in chronic haemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Scand J Urol Nephrol* 31: 371-375, 1997.