

TRATAMENTO DA ANEMIA DOS DOENTES INSUFICIENTES RENAI CRÓNICOS EM HEMIDIÁLISE COM ERITROPOIETINA*

M. MARTINS PRATA, F. TEIXEIRA DE SOUSA, J. VIEIRA BARBAS, A. MARQUES DA COSTA, J. VINHAS, PAULO MOREIRA, CARLOS ABRANTES, M. CRISTINA LOPES

Unidade de Nefrologia Hospital Santa Maria. Centros de Hemodiálise do Lumiar e C. U. F. Lisboa. Centro de Hemodiálise de Vila Franca de Xira.

RESUMO

Um grupo de 50 doentes (26 homens e 24 mulheres, com idade média de 50 ± 19 anos e limites de 21 a 67) em hemodiálise crónica (HD) e com hemoglobina (Hb) inferior ou igual a 8 g/dl foi tratado com eritropoietina recombinante humana (r-HuEpo) durante 3 meses. Iniciou-se a administração da r-HuEpo com a dose de 50 U/kg I.V. 3 vezes por semana, após cada sessão de HD. Manteve-se esta dose durante 4 semanas e depois teve aumentos mensais de 25 U/kg até que a Hb atingisse o valor de 12 g/dl ou a dose máxima de r-HuEpo atingisse os 100 U/kg. Foram efectuados controlos analíticos hematológicos e bioquímicos antes do início da r-HuEpo e depois a intervalos semanais ou mensais respectivamente. Em 8 doentes foi determinada a semi-vida eritrocitária com crómio 51 antes e após os 3 meses de tratamento. Um doente foi retirado do estudo por convulsões. Em 44 doentes houve uma subida significativa dos valores da Hb a partir da 4.ª semana; 5 doentes não responderam por existência acentuada deficiência de em ferro. Os valores das plaquetas e leucócitos não variaram significativamente enquanto que o ferro e a ferritina sérica diminuíram progressivamente. A semi-vida eritrocitária não sofreu alterações, mantendo-se em valores inferiores aos normais. Verificou-se um aumento significativo dos níveis plasmáticos da ureia, creatinina e do fósforo ao 3.º mês de tratamento mas não do potássio. Em 32.6% dos doentes (15/49) registou-se uma subida dos valores tensionais dependente das variações do hematócrito. Não se registou nenhum episódio de coagulação dos acessos vasculares ou qualquer outro efeito secundário. Verificou-se uma melhoria subjectiva global dos doentes. Em conclusão, os resultados confirmaram a eficácia do tratamento da r-HuEpo na correcção da anemia da insuficiência renal crónica e os efeitos adversos do seu uso podem ser facilmente prevenidos e controlados desde que se cumpram determinadas regras de vigilância na sua administração.

SUMMARY

Treatment of the anemia in chronic renal patients in hemodialysis with recombinant human erythropoietin

A group of 50 patients (26 men and 24 women, mean age 50 ± 19 years and range 21 to 67) on chronic hemodialysis (HD) and with basal levels of hemoglobin (Hb) ≤ 8 g/dl was treated with recombinant human erythropoietin (r-HuEpo) during 3 months. r-HuEpo was started at 50 U/kg I.V. 3 times a week, immediately after each session of HD, for 4 weeks, and this dose was increased in steps of 25 U/kg until a Hb level of 12 g/dl or a maximum dose of 100 U/kg were reached. Complete blood counts and biochemical profile were performed before the first dose of r-HuEpo and once weekly and monthly respectively during the period of treatment. In 8 patients the red-cell life span was studied with chromium 51 labelled erythrocytes just before and after treatment. One patient had a grand mal seizure and the r-HuEpo was discontinued. In 44 patients the mean hematocrit increased from 21.8% to 32.1% and in the other 5 there were no response because of iron deficiency. There were no changes in leucocytes and platelets counts and consistent decreases in iron and ferritin serum concentrations were observed despite oral supplementation of iron. In the 8 patients studied the shortened erythrocyte survival did not suffer any significant variation with r-HuEpo. Predialysis creatinine, urea and phosphorus blood levels increased significantly at 3.th month of treatment but there was no increase in potassium. In 32.6% of previously normotensive and hypertensive patients an increase in blood pressure was founded. Thrombosis of arteriovenous fistulas and other severe clinical side effects were not observed. All patients reported an increased well being. We may conclude that these results confirm the efficacy of the r-HuEpo in the correction of the anemia of hemodialysis patients and that its adverse effects can be easily prevented and controlled with close surveillance and adequate therapeutic rules.

INTRODUÇÃO

A anemia é uma das principais complicações da insuficiência renal crónica (IRC). Aproximadamente 25% dos doentes renais crónicos em hemodiálise necessitam regularmente de transfusões sanguíneas.

Os mecanismos patogénicos da anemia da IRC são complexos e multifactoriais¹⁻⁶ sendo a causa mais importante a diminuição endógena de eritropoietina⁷.

Os avanços tecnológicos da recombinação genética do DNA permitiram a produção de eritropoietina recombinante humana (r-HuEpo) em quantidades suficientes para a realização de ensaios clínicos⁸⁻¹¹ e os trabalhos de Winearls¹² e de Eschbach^{13,14} vieram demonstrar a sua eficácia na correcção da anemia dos doentes em hemodiálise crónica.

* Trabalho coordenado no Departamento de Nefrologia do HSM.

Neste trabalho apresentamos a nossa experiência obtida através de um ensaio clínico, multicêntrico, realizado em 50 doentes insuficientes renais crônicos em hemodiálise submetidos a r-HuEpo durante 3 meses.

MATERIAL E MÉTODOS

Doentes e Critérios de Admissão

A 50 doentes em programa crônico de hemodiálise (média: 40.7 ± 4.0 meses, 2 a 118 meses), com níveis de hemoglobina (Hb) inferiores ou iguais a 8 g/dl administraram-se r-HuEpo com o objectivo de corrigir parcialmente a anemia. Os doentes (24 do sexo feminino e 26 do sexo masculino) cujas etiologias se encontram incluídas no Quadro 1 tinham idades compreendidas entre os 21 e os 67 anos (média: 50.0 ± 19.0). Um doente foi retirado do estudo ao 2.º mês por terem surgido convulsões.

Os critérios de admissão no estudo foram os seguintes: valor de Hb inferior ou igual a 8 g/dl, idade inferior a 70 anos, ausências de doença sistémica, hemólise ou perda de sangue e ausências de intoxicação de alumínio e de déficite da vitamina B₁₂ e ácido fólico. 22 doentes faziam suplementação oral de ferro.

Eritropoietina Recombinante Humana

A r-HuEpo foi administrada por via endovenosa imediatamente após cada uma das três sessões de hemodiálise semanais, durante um período de 3 meses. A dose inicial, durante o 1.º mês, foi de 50 U/kg de peso seco, aumentada em 25 U/kg cada 4 semanas (75 U/kg e 100 U/kg nos 2.º e 3.º meses), até os valores da hemoglobina e do hematócrito (Hct) estabilizarem entre os 10-12 g/dl e os 30-35 vol %, respectivamente.

Antes do início do tratamento com r-HuEpo 33 doentes (67.3%) eram normotensos e 16 (33.6%) eram hipertensos controlados. Para além do registo tensional antes e depois das sessões de diálise e de hora a hora durante a realização das mesmas, os níveis tensionais foram também registados 2 a 3 minutos após a administração e.v. da r-HuEpo.

Parâmetros Laboratoriais

Antes do início do tratamento e depois fizeram-se colheitas de sangue para determinação dos seguintes parâmetros biológicos: hemograma, ureia, creatinina, ionograma, cálcio, fósforo, albumina, bilirrubina total, transaminases, fosfatase alcalina, ferro, transferrina, ferritina, alumínio e PTH. Semanalmente fez-se o hemograma até ao fim do estudo. Em 8 doentes foi determinada a semi-vida dos eritrócitos marcados com crómio radioactivo (51 Cr) antes e depois do tratamento.

QUADRO 1 — Etiologias da insuficiência renal crónica

Glomerulonefrite crónica	13
Litíase renal e gota	8
Tuberculose renal	6
Nefroangiosclerose	6
Pielonefrite crónica	3
Nefropatia de refluxo	3
Nefropatia de analgésicos	2
Rins poliquísticos	1
LED	1
Amiloidose	1
Desconhecida	6

RESULTADOS

A administração da r-HuEpo, nos 49 doentes submetidos a tratamento até ao fim do estudo, originou uma subida progressiva dos valores da Hb e do Hct os quais, à 4.ª semana, já apresentavam diferenças estatisticamente significativas em relação aos valores iniciais (Fig. 1 e 2, Quadro 2). Ao longo das restantes semanas continuou a observar-se uma subida gradual atingindo-se os valores previstos ao 3.º mês (Quadro 2) em 89.8% dos doentes (44/49). A variação do Hct (Δ Hct) entre o início e o fim do tratamento foi muito variável de doente para doente tendo sido em média de 10.57 ± 4.68 . Em 5 dos 49 doentes (10.2%) não se registou uma adequada resposta à r-HuEpo por existência de uma acentuada carência de ferro.

Os valores sanguíneos das plaquetas e dos leucócitos não variaram significativamente ao longo dos 3 meses de tratamento (Quadro 2).

Tanto os níveis séricos do ferro como os da ferritina diminuiriam progressivamente ao longo do tratamento, apresentando ambos uma descida significativa aos 2.º e 3.º meses de tratamento (Quadro 2); os valores séricos da transferrina não sofreram quaisquer variações.

Em 8 doentes em que se fez o estudo da semi-vida eritrocitária (T/2) com o 51 Cr, antes e depois da correcção parcial da anemia com r-HuEpo, não se observaram variações significativas, mantendo-se a T/2 eritrocitária inferior valores considerados normais (Quadro 3).

Os níveis séricos da ureia, da creatinina e do fósforo apresentaram, em relação aos valores iniciais, um aumento significativo ao 3.º mês do tratamento (Quadro 4); o nível sérico do potássio não sofreu qualquer variação significativa o mesmo se verificando em relação a todos os outros parâmetros estudados.

Durante os 3 meses de tratamento com r-HuEpo registou-se uma subida dos valores tensionais em 32.6% dos doentes (15/49) tendo obrigado a uma adaptação na terapêutica anti-hipertensiva em 5 dos doentes com HTA pré-existente controlada e à sua instituição de novo em 10 dos 33 doentes inicialmente normotensos; a subida da pressão arterial verificou-se entre a 5.ª e a 10.ª semanas de tratamento.

A subida dos valores tensionais foi mais frequente nos doentes que iniciaram o tratamento com o valor do Hct igual ou inferior a 20 vol % (9/15, 60%) bem como nos doentes em que se determinou um aumento do Hct maior ou igual a 10 vol % (11/15, 73%).

Num doente observou-se, ao 2.º mês de tratamento, um quadro de convulsões generalizadas o qual não foi precedido nem de uma subida dos valores da pressão arterial nem de uma subida muito significativa ou brusca do valor do Hct. O tratamento foi interrompido tendo o doente, que já apresentava episódios de crises convulsivas no seu passado, recuperado totalmente.

Em 4 sessões de hemodiálise registaram-se fenómenos de coagulação tendo sido necessário proceder à substituição do sistema extracorporeal; não se verificou qualquer caso de trombose completa ou parcial dos acessos vasculares dos doentes. Também não se verificaram quaisquer reacções de tipo alérgico, locais ou sistémicas.

Se bem que apenas avaliada subjectivamente assistiu-se a uma nítida melhoria global da qualidade de vida dos doentes submetidos à terapêutica com r-HuEpo reflectida por uma sensação de bem estar, aumento do apetite e da actividade física e de uma maior capacidade de concentração.

DISCUSSÃO

Uma das principais complicações dos doentes em hemodiálise crónica é a anemia que, actualmente, é possível corri-

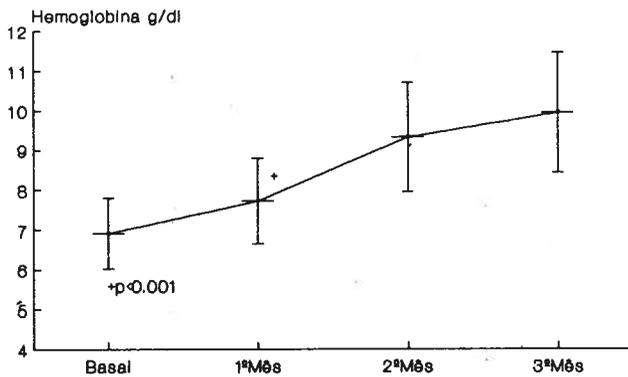


Fig. 1 — Alteração da hemoglobina durante o tratamento com a r-HuEpo.

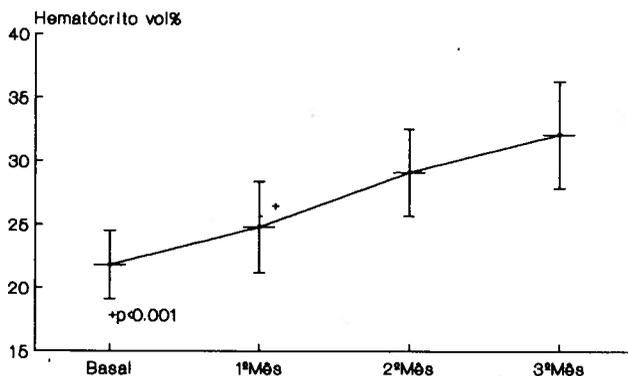


Fig. 2 — Alteração do hematócrito durante o tratamento com a r-HuEpo.

gir com a utilização da r-HuEpo a qual permite diminuir a necessidade de transfusões sanguíneas nestes doentes e consequentemente as suas complicações (sobrecarga de ferro, transmissão de doenças infecciosas e produção de anticorpos anti-leucocitários).

A correcção da anemia obtida em 89.8% dos doentes (44/49), aos 3 meses de tratamento com r-HuEpo (Quadro 2), é um resultado sobreponível ao registado noutros estudos multicêntricos já realizados^{12,13,15-21}. Eschbach¹³ demonstrou que a resposta eritropoiética era dependente da dose de r-HuEpo administrada. A dose inicial de 50 U/kg, três vezes por semana, com aumentos mensais de 25 U/kg até se atingir os valores hematológicos desejáveis, mostrou ser eficaz e segura¹⁸. Outros investigadores¹⁵ preconizam

doses iniciais mais elevadas (150 U/kg três vezes por semana) com posterior redução após a obtenção dos valores hematológicos pretendidos. No entanto, pensamos que uma subida progressiva da dose será acompanhada de uma menor frequência de efeitos adversos e de uma igual eficácia.

Ao contrário de vários autores que descrevem um ligeiro aumento de 10 a 20% das plaquetas^{16,22,23} e dos leucócitos^{22,24} durante a fase de iniciação terapêutica com r-HuEpo, não encontramos nos nossos doentes quaisquer variações significativas daqueles elementos. Este dado contraria os resultados de estudos realizados in vitro que demonstraram que a r-HuEpo estimulava não só a diferenciação das células progenitoras da linha eritróide (BFU-E e CFU-E) como também das células progenitoras da linha megacariocítica²⁵ e mielóide^{26,27}. No entanto está de acordo com a hipótese, defendida por outro autor²⁸, de que apenas existiam receptores para a eritropoietina nas células precursoras da série eritróide e que o aumento das plaquetas observado nalguns doentes sob o efeito da r-HuEpo não seria uma acção directa daquela hormona mas apenas o resultado da própria correcção da anemia.

Durante a terapêutica com r-HuEpo verificou-se uma diminuição gradual e progressiva dos níveis séricos do ferro e da ferritina (Quadro 2) como também tem sido demonstrada por outros autores^{12,13,29} e que está de acordo com uma maior utilização dos depósitos de ferro na síntese da nova hemoglobina. Por este motivo deve ser sempre excluída a possibilidade da existência de uma deficiência de ferro (ferritina < 100 ng/ml e saturação da transferrina < 20%) antes de iniciar a terapêutica com r-HuEpo. Este défice constitui a causa mais frequente de uma resposta inadequada à r-HuEpo³⁰ e, em geral, cerca de 50% dos doentes tratados com r-HuEpo necessitam fazer suplementos orais de ferro. Dos 5 doentes que tiveram uma resposta inadequada à r-HuEpo só um fazia terapêutica com ferro oral. Comparando os resultados obtidos nos grupos de doentes, com e sem suplementação de ferro, verificou-se que a resposta foi superior no primeiro grupo, independentemente do nível sérico da ferritina ser superior ou inferior a 100 ng/ml. O teor de depósito de ferro como factor de resposta à r-HuEpo é de tal importância que Van Wyck e col.³¹ criaram fórmulas matemáticas para o cálculo das quantidades de ferro que será necessário administrar a fim de se obter uma resposta adequada durante o tratamento.

Tal como outros autores^{32,33} também nós não registámos qualquer alteração significativa do valor da semi-vida dos eritrócitos marcados com 51 Cr antes e depois da correcção da anemia com r-HuEpo (Quadro 3) o que está de acordo com o mecanismo secundário da benodíalise na patogenia da anemia da IRC.

Existe alguma controvérsia quanto à possibilidade de um aumento do Hct acima dos 30% vir a determinar uma diminuição da eficácia da hemodíalise. Na realidade, nalguns

QUADRO 2 — Alteração dos valores hematológicos durante o tratamento com r-HuEpo

Parâmetros	Pré	1.º Mês	2.º Mês	3.º Mês
Hemoglobina g/dl	6.91 ± 0.89	7.72 ± 1.07*	9.32 ± 1.37	9.93 ± 1.51
Hematócrito vol%	21.8 ± 2.7	24.8 ± 3.6*	29.1 ± 3.4	32.1 ± 4.2
Plaquetas × 10 ³	235 ± 77.8	228 ± 63.7	231 ± 58.4	236 ± 62.5
Leucocitos × 10 ³	5.89 ± 1.63	5.81 ± 2.0	5.96 ± 1.72	6.39 ± 1.89

* p < 0.001 (em relação ao valor basal)

Ferro mcg/dl	72.3 ± 30.5	64.9 ± 27.2	58.5 ± 31.2 *	52.0 ± 26.6 **
Ferritina ng/ml	273.8 ± 230.6	210.3 ± 220.5	163.8 ± 190.3*	127.7 ± 144.3**
Transfer. mg/dl	250.8 ± 69.1	250 ± 74.3	235 ± 72.9	245.5 ± 56.1

+ p < 0.03 * p < 0.02
 ++ p < 0.001 ** p < 0.0004 (em relação ao valor basal)

QUADRO 3 — Valores da semi-vida dos eritrócitos com Crómio 51 antes e depois da r-HuEpo

Doentes (n = 8)	Antes	Depois
Crómio 51 (23-36 dias)	18.75 ± 2.49	17.87 ± 1.88
Hemoglobina g/dl	7.37 ± 0.38	9.47 ± 1.36*

* p < 0.005

ensaios clínicos registou-se um ligeiro aumento, embora não significativo, dos níveis séricos da ureia, da creatinina e do fósforo^{18,24,34} e do potássio^{12,16} se bem que este último não se tenha observado noutros ensaios^{18,34}. Nos nossos doentes não se verificou qualquer alteração do nível sérico do potássio mas os níveis séricos da ureia, creatinina e do fósforo subiram significativamente no 3.º mês de tratamento. De momento ainda não se sabe se estas alterações são o resultado de uma redução da eficácia de diálise ou de um aumento da ingestão de alimentos pelos doentes. Porém, num estudo por nós realizado³⁵ em que se avaliou o efeito da correcção da anemia com r-HuEpo sobre a ingestão proteica (pcr) e a eficácia de diálise (KT/V) não encontramos, ao longo de 24 semanas de terapêutica, qualquer variação significativa daqueles parâmetros. Embora a nossa experiência em 17 doentes tratados com r-HuEpo ao longo de mais de 12 meses não tenha revelado problemas relacionados com hipercaliemia ou com retenção azotada (Martins Prata, dados não publicados) consideramos útil manter uma vigilância regular, particularmente no que se refere aos níveis séricos do potássio e, se necessário, tomar as medidas terapêuticas adequadas (alteração do esquema dialítico, redução da ingestão proteica).

A HTA é uma das complicações mais frequentes no decurso do tratamento da anemia da IRC com r-HuEpo quer se desenvolva nos doentes inicialmente normotensos quer nos doentes com HTA pré-existente controlada. Esta complicação aparece em cerca de 1/3 dos doentes na maioria dos ensaios clínicos^{12-14,18,36} tendo-se verificado em 32.6% dos doentes (15/49) do nosso estudo (em 5 dos 16 doentes com HTA pré-existente controlada e em 10 dos 33 doentes inicialmente normotensos). Ao contrário de outros autores^{17,36} não consideramos que a situação tensional do doente antes de iniciar o tratamento com r-HuEpo represente um factor de risco no posterior desencadear do HTA, durante a correcção da anemia³⁷. Verificámos que os factores de risco mais importantes no aparecimento da HTA nos nossos doentes foram os valores basais mais baixos do hematócrito no início do tratamento (≤ 20 vol %) e o valor do aumento do hematócrito após a correcção da anemia (≥ 10 vol %)³⁷. A HTA que surge quando a anemia é corrigida com a r-HuEpo não é causada por uma acção directa da própria hormona³⁸⁻⁴¹ mas pelas alterações hemodinâmicas determinadas pela correcção da anemia: aumento das resistências periféricas totais como

consequência, por um lado, de um aumento da viscosidade sanguínea⁴² determinada pela subida do Hct e da manutenção das alterações hemorreológicas que a administração de r-HuEpo não parece corrigir⁴⁴ e, por outro, da reversibilidade da vasodilatação pré-existente compensatória da anemia⁴³.

Um doente do nosso estudo desenvolveu ao 2.º mês de tratamento um quadro de convulsões generalizado aparentemente não relacionado com a subida dos valores tensionais nem com o aumento brusco e significativo do valor do Hct. A prevalência dos episódios de convulsões varia de centro para centro e está avaliada em cerca de 2% ao fim de um ano de tratamento com r-HuEpo¹⁸. Têm sido descritas convulsões com valores de Hct baixo ou alto e também com hipertensão moderada⁴⁵. Os mecanismos das convulsões não estão bem definidos podendo ser a combinação de uma elevação brusca da pressão arterial e de um aumento da viscosidade sanguínea com a respectiva hipóxia cerebral. Será indispensável realizar uma mais intensa investigação neste campo a fim de se compreenderem os mecanismos fisiopatológicos responsáveis e, deste modo, procurar a sua prevenção.

Em face dos resultados consideramos essencial manter uma monitorização regular da pressão arterial em todos os doentes na fase aguda do tratamento com r-HuEpo, quando a Hb e o Hct sobem até aos valores desejáveis. Todos os casos de aparecimento de novo ou de exacerbação da HTA nos nossos doentes foram facilmente controlados com ultrafiltração e/ou medicamentos anti-hipertensores³⁷.

Não registamos qualquer perda de acessos vasculares por fenómenos de coagulação apesar de ser uma complicação referenciada por alguns autores^{11,18}. A coagulação do dialisador e do sistema extracorporeal foi rara e bem controlada com pequenos aumentos da dose de heparina não tendo influenciado o programa de reutilização, nem a eficácia do dialisador e nem o índice de reutilização⁴⁶.

Não observámos outros efeitos adversos relacionados com a administração endovenosa da r-HuEpo tais como episódios de dores ósseas na região pélvica^{11,16} ou reacções alérgicas, locais ou gerais¹⁶, provavelmente devido ao facto da infusão e.v. da r-HuEpo ser sempre realizada muito lentamente, em cerca de 2 a 3 minutos.

Em conclusão, os nossos resultados confirmaram a enorme eficácia do tratamento da r-HuEpo na correcção da anemia da IRC e os efeitos adversos inerentes ao seu uso podem, em geral, ser facilmente prevenidos e controlados desde que se mantenham determinadas regras de vigilância na sua administração.

BIBLIOGRAFIA

- MCGONIGLE R.J.S., WALLIN J.D., SHADDUCK R.K. et al: Erythropoietin deficiency and inhibition of erythropoiesis in renal insufficiency. *Kidney Int* 1984; 35: 437-444.
- ESCHBACH J.W., MLADENOVIC J., GARCIA J.F. et al: The anemia of chronic renal failure in sheep response to erythropoietin-rich plasma in vivo. *J Clin Invest* 1984; 74: 434-441.

QUADRO 4 — Alteração dos valores bioquímicos durante o tratamento com r-HuEpo

Parâmetros	Basal	1.º Mês	2.º Mês	3.º Mês
Ureia mg/dl	178.7 ± 32.3	186.3 ± 42.3	188.3 ± 43.0	194.9 ± 37.9 ^o
Creatinina mg/dl	10.4 ± 2.5	10.2 ± 2.3	10.9 ± 2.5	11.5 ± 2.7 ^o
Fósforo mg/dl	5.1 ± 1.2	5.6 ± 1.3	5.5 ± 1.8	6.1 ± 1.7*
Potássio mEq/L	5.5 ± 0.7	5.6 ± 0.8	5.8 ± 0.8	5.7 ± 0.8

* p < 0.03 ^o p < 0.05 * < 0.002 (em relação ao valor basal)

3. CARO J.S., BROWN S., MILLER O. et al: Erythropoietin levels in uremic nephric patients. *J Lab Clin Med* 1979; 93: 449-458.
4. SHAW A.G.: Hemolysis in chronic renal failure. *Br Med J* 1967; 2: 213-244.
5. HOTTA T., MAEDA H., SUZUKI I. et al: Selective inhibition of erythropoiesis by sera from patients with chronic renal failure. *Proc Soc Exp Biol Med* 1987; 186: 47-51.
6. RADTKE H.W., REGE A.B., LA MARCHE M.B. et al: Identification of spermine as an inhibitor of erythropoiesis in patients with chronic renal failure. *J Clin Invest* 1981; 67: 1623-1629.
7. ESCHBACH J.W.: The anemia of chronic renal failure: Pathophysiology and the effects of recombinant erythropoietin. *Kidney Int* 1989; 35: 134-148.
8. LIN F.K., SUGGS S., LIN C.H. et al: Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7580-7584.
9. JACOBS K., SHOEMAKER C., RODERSDORF R. et al: Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature* 1985; 313: 806-810.
10. POWELL J.S., BERKNER K.L., LEBO R.V. et al: Human erythropoietin gene: High level expression in stably transfected mammalian cells and chromosome localization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 6465-6469.
11. EGRIE J.C., STRICKLAND T.W. et al: Characterization and biological effect of recombinant human erythropoietin. *Immunobiology* 1986; 172: 213-224.
12. WINEANLS C.G., OLIVER D.O., PIPPARD M.J. et al: Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet* 1986; 2: 1175-1178.
13. ESCHBACH J.W., EGRIE J.C., DOWNING M.R. et al: Correction of the anemia of end stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trials. *N Engl J Med* 1987; 316: 73-78.
14. ESCHBACH J.W., ADAMSON J.W.: Correction of the anemia of hemodialysis in patients with r-HuEpo: Results of a multicenter study *Kidney Int* 1988; 33: 189 (A).
15. ESCHBACH J.W., ADAMSON J.W.: Correction of the anemia of hemodialysis (HD) patients with recombinant human erythropoietin (r-HuEpo): Results of a multicenter study: *Blood* 1987 (suppl I); 70: 134 (A).
16. BOMMER J., ALEXIOU C., MULLER-BUHL U. et al: Recombinant human erythropoietin therapy in haemodialysis patients Dose determination and clinical experiment. *Nephrol Dial Transplant* 1987; 2: 238-242.
17. CASATI S., PASSERINI P., CAMPISE M.R. et al: Benefits and risks of protracted treatment with human recombinant erythropoietin in patients having haemodialysis. *Br Med J* 1987; 295: 1017-1020.
18. SUNDAL E., BARIETY J., BOMMER J. et al: Correction of anemia of chronic failure with recombinant human erythropoietin: Results from multicenter study in 150 haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1989; 4: 979-987.
19. SCHAEFER R.M., KUERNER B., ZECH M. et al: Treatment of the anemia of hemodialysis patients with recombinant human erythropoietin. *Int J Artif Organs* 1988; 11: 249-254.
20. KEOWN P.A.: The effect of recombinant human erythropoietin (EPO) upon quality of life and functional capacity of anemic patients on chronic hemodialysis. *Kidney Int* 1989; 35: 195 (A).
21. AKIZAWA T., KOSHIKAWA S., TAKAKU F. et al: Clinical effect of recombinant human erythropoietin on anemia associated with chronic renal failure. A multi-institutional study in Japan. *Artif Kidney Dial* 1988; 11: 343-350.
22. ZINS B., DRIIEKE T., ZINGRAFF J. et al: Erythropoietin treatment in anaemic patients on haemodialysis. *Lancet* 1986; ii: 1329.
23. MOIA M., VIZZOTTO L., CATTANEO M. et al: Improvement in the haemostatic defect of uraemia after treatment with recombinant human erythropoietin. *Lancet* 1987; ii: 1227-1229.
24. SCHAEFER R.M.: First European multicenter: efficacy and safety in end-stage renal disease. *Abstr Ist Int Symp r-HuEpo*, Cannes 1988.
25. ISHIBASHI T., KOZIOL J.A., BURSTEIN S.A. et al: Human recombinant erythropoietin promotes differentiation of murine megakaryocytes in vitro. *J Clin Invest* 1987; 79: 286-289.
26. STOCKENHUBER F., GEISSLER K., SUNDER-PLASSMANN G. et al: Recombinant human erythropoietin activates a broad spectrum of hematopoietic stem cells. *Kidney Int* 1989; 35: 321.
27. DOSQUET P., HADDOUM F., SPORER P. et al: In vitro multilineage increase of bone marrow hematopoietic progenitors from haemodialysed patients treated with recombinant human erythropoietin. *Kidney Int* 1989; 35: 245.
28. SPIVAK J.L.: Erythropoietin: A Brief Review *Nephron* 1989; 52: 289-294.
29. AKIZAWA T., KOSHIKAWA S., TAKAKU F. et al: Clinical effect of recombinant human erythropoietin on anemia associated with chronic renal failure. A multi-institutional study in Japan. *In J Art Organs* 1988; 11: 343.
30. STIVELMAN J.C.: Resistance to recombinant human erythropoietin therapy. A renal clinical entity? *Seminars in Nephrology* 1989 suppl 2, page 8.
31. VAN WYCK D.B., STIVELMAN T.C., RUIZ J. et al: Iron status in patients receiving erythropoietin for dialysis associated anemia. *Kidney Int* 1989; 35: 712.
32. DRÜEKE T., ZINS B., MOYNOT A. et al: Kinetics of erythropoietin in hemodialysis patients on recombinant erythropoietin treatment. *Kidney Int* 1989; 35: 245.
33. ZEHNDER C., BLUMBERG A.: Human recombinant erythropoietin treatment in transfusion-dependent anemic patients on maintenance hemodialysis. *Clin Nephrol* 1989; 31: 55-59.
34. STIVELMAN J., VAN WYCK L., OGDEN D.: Use of recombinant erythropoietin with high efficiency dialysis does not worsen azotemia or shorten access survival. *Kidney Int* 1988; 33: 239.
35. SANTOS J.P., PRATA M.M., BARBAS J.V., SOUSA F.T.: Erythropoietin, protein ingestion (per) and adequacy of hemodialysis (KT/V) XXVI Congr of EDTA, livro Abstr, pag 210, 1989.
36. SAMTLEBEN W., BALDAMES C.A., BOMMER J. et al: Blood pressure changes during treatment with recombinant human erythropoietin. *Contrib Nephrol* 1988; 66: 114-122.
37. MARTINS PRATA M., TEIXEIRA DE SOUSA F., BARBAS J. et al: Hipertensão arterial nos doentes insuficientes renais crônicos em hemodíálise tratados com eritropoietina. *Rev Port Cardiologia (d)* 1990; 9: 119.
38. KRANTZ S.B.: Treatment of rheumatoid-arthritis with recombinant human erythropoietin. Clinical and in vitro results. *Blood* 1987 (suppl I); 70: 139 (A).
39. GUTTERMAN J.U.: Potencial use of erythropoietin in cancer and bone marrow failure. *Symp Abstr Annu Am Soc Hematol*, December 1988 (abstr), p 3.
40. HENRY D.H.: Treatment of anemia in patients with AIDS. *Symp Abstr Annu Am Soc Hematol*, December 1988 (abstr), p 3.
41. GOODNOUGH L.T.: Erythropoietin applications in transfusion medicine. *Symp Abstr Annu Am Soc Hematol*, December 1988 (abstr), p 6.
42. SCHAEFER R.M., LESCHKE M., STAVER B.E., ACIDELAND A.: Blood rheology and hypertension in hemodialysis patients treated with erythropoietin. *Am J Nephrol* 1988; 8: 449.
43. BUCHNER F.S., ESCHBACH J.W., HALEY N.R. et al: Correction of the anemia in hemodialysis (HD) patients with recombinant human erythropoietin (r-HuEpo): Hemodynamic changes and risks for hypertension. *Kidney Int* 1989 (abstr); 35: 190.
44. PRATA M.M., BARBAS J.M., TEIXEIRA SOUSA F. et al: Apparent normalization of some hemorheological parameters after partial correction of anemia with erythropoietin in patients with chronic renal failure on hemodialysis. 4th Int Symposium on Clinical Hemorheology, Estoril, 1988.
45. JACQUOT C., FERRAGUE-HAGUET M., LEFEBRE A. et al: Recombinant erythropoietin and blood pressure. *Lancet* 1987; ii: 1083.
46. SANTOS J.P., PRATA M.M., BARBAS J.V., SOUSA F.T.: Erythropoietin and hemodialysers' reuse. XXVI Congr of EDTA, livro Abstr, pag 209, 1989.

Pedido de Separatas:
 M. Martins Prata
 Unidade de Nefrologia
 Hospital Santa Maria
 Rua Prof. Egas Moniz
 1600 Lisboa