

Tratamiento con eritropoyetina de enfermos anémicos sometidos a hemodiálisis

Emilio González Parra*
Antonio Méndez Martín**
Arturo Ortiz González***

RESUMEN

En los pacientes con IRC existe una anemia debida, en parte, a las hemorragias crónicas, al aumento de la hemólisis y la influencia de las toxinas urémicas, pero además, de una forma sobresaliente, a la disminución de la eritropoyetina.

Es una glicoproteína formada en el riñón, en las células peritubulares. Actúa sobre las células ERC de la médula ósea aumentando la eritropoyesis. Mediante técnicas de ingeniería genética se ha logrado sintetizar dicha hormona lo que ha permitido su uso en los enfermos con IRC.

La forma de administración es vía intravenosa, subcutánea o intraperitoneal. Parece ser que las tres vías es la subcutánea la que alcanza niveles plasmáticos más duraderos, mientras que la intravenosa los alcanza con mayor rapidez.

La dosis administrada deben calcularla individualmente. Nosotros hemos comenzado con 50 u/k/sesión de hemodiálisis hasta alcanzar unos valores de Hb, próximos a 10 mgr/dl.

Hemos comprobado una mejoría sustancial de la calidad de vida de nuestros pacientes, al desaparecer la sintomatología propia de la anemia. Los niveles sanguíneos de la serie roja aumentaron y se estabilizaron ya al mes de tratamiento. Apareció en todos los pacientes una sideropenia que obligó a terapéutica de reposición. No hubo más variaciones analíticas.

Entre los efectos secundarios cabe destacar la presentación en un enfermo de hipertensión y en otro trombosis de la fístula, como únicas complicaciones.

SUMMARY

Anaemia exists in patients with IRC, due in part to chronic haemorrhages, the increase in haemolysis and the influence of uremic toxins, but also and in very great part to the decrease in erythropoietin.

It is a glycoprotein formed in the kidney, in the peritubular cells, and acts on the ERC cells of the medula osea increasing erythropoiesis. Using genetic engineering techniques, this hormone has been synthesized allowing it to be used in patients with IRC.

The administration is intravenous, subcutaneous or intraperitoneal. It appears that of the three ways, subcutaneous is the one that achieves more lasting plasmatic levels, while intravenous administration acts more rapidly.

The dosage administered must be calculated individually. We began with 50 u/k/session of haemodialysis until amounts of Hb were reached of around 10 mgr/dl.

We have found a substantial improvement in the quality of life of our patients, with the disappearance of symptoms related to anaemia. The blood levels of the red series increased and stabilized one month after treatment. A sideropenia appeared in all the patients that demanded a replacement therapy. There were no other analytical variations.

Among the secondary effects should be noted the presentation of hypertension in one patient and a fistula thrombosis in another, these being the only complications.

INTRODUCCION

En la Insuficiencia renal crónica (IRC), independientemente de la en-

fermedad de base, prácticamente todos los pacientes tienen anemia hipoproliferativa. La anemia es responsable en gran medida de la disminución del rendimiento físico de los pacientes. Las causas de esta anemia son múltiples y podemos resumirlas como sigue (1):

— Hemorragias crónicas. Los enfermos renales urémicos tienen una

pérdida de sangre incrementada por pequeñas úlceras y erosiones epiteliales, destacando la gastritis urémica. Además debemos añadir las pérdidas que tienen lugar durante la hemodiálisis, ya sea por coagulación del filtro o por extracciones (2).

— Aumento de la hemólisis: El tiempo de supervivencia de los eritrocitos se halla acortado en el paciente urémico. Esto se debe a lesio-

* Teniente Médico, diplomando de Nefrología.
** Teniente Coronel, Diplomado de Nefrología.
*** Teniente Coronel, Jefe del Servicio de Nefrología.
Servicio de Nefrología. Hospital del Aire. Madrid.

nes de la membrana eritrocitaria, una actividad alterada del transporte de iones y una alteración del shunt hexosaminofosfato.

— *Influencia de toxinas urémicas.* Así la PTH, las poliaminas (espermina) son inhibidores de la hematopoyesis. En este apartado incluimos el aluminio que usamos como quelantes del fósforo y que también es responsable de la anemia (3).

— *Influencia patogénica de la eritropoyetina (4):* Por todas las causas dichas anteriormente la EPO debería de estar aumentada en estos pacientes para corregir esta anemia, pero esto no ocurre (5,6). Incluso cuando se ven cifras normales o altas no se descarta insuficiencia relativa. Las cifras normales en plasma de EPO son de 22-300 mu/ml.

Hasta ahora, el tratamiento de la anemia renal, venía haciéndose con suplemento de testosterona, hierro, cobalto o con quelantes de aluminio (7). La mayor parte de las veces solían usarse concentrados de eritrocitos, que es eficaz de forma transitoria, presentando múltiples inconvenientes.

Los enfermos que fueron estudiados en nuestro Servicio necesitaron en todos los casos concentrado de hematíes en más de una ocasión.

ERITROPOYETINA HUMANA (EPO)

La EPO es una glicoproteína con un peso molecular de 32.100 dalton. La fracción protéica de la molécula comprende aproximadamente un 60% y consta de 165 aminoácidos. Además contiene unos 16-18 radicales de ácido psiálico los cuales no participan en la unión a las células medulares de respuesta (8,9).

El gen de la EPO se localiza en el cromosoma 7 en el hombre, en las regiones q-11 a q-22 y tiene 5 exones y 4 intrones (10).

La EPO se detecta en las células peritubulares del riñón (9), en respuesta a la hipoxia, y es este tejido el principal productor en el adulto de esta hormona. Así la hipoxia estimula su formación mientras que un exceso de O₂ lo frena. Las células en las que se ha detectado el mRNA formador de eritropoyetina se en-

cuentran fundamentalmente en el cortex, observándose por fuera de la membrana basal tubular sugiriendo que son las células intersticiales o las endoteliales donde se forma.

Se ha visto igualmente en animales anéfricos y en embriones, sugiriéndose que está presente antes del desarrollo del riñón. Las células del hígado fetal *in vitro* pueden formarla aunque después de la 17 semana de gestación. Está todavía por determinar si la EPO de los embriones es maternal o formada en el mismo embrión (9).

Se sabe que la EPO actúa selectivamente sobre la médula ósea para inducir la eritropoyesis sin afectar a la producción de leucocitos o de plaquetas (11). Se ha demostrado que no actúa sobre la CFU-s, sino sobre un descendente más desarrollado que se ha denominado célula respondedora de EPO (ERC). Esta célula ERC se ha identificado por ahora como dos células diferentes CFU-E y BFU-E. La CFU-E con EPO da lugar a una pequeña colonia de eritroblastos que aparece a las 48 horas y con poco nivel de EPO. La BFU-E requiere grandes cantidades de EPO y producen un gran acúmulo de eritroblastos que requiere unos 7 días.

ERITROPOYETINA RECOMBINANTE HUMANA (r-Huepo)

Historia (8)

En 1906 Carnot y Flandre propusieron la hipótesis de la existencia de un factor eritropoyético en la sangre responsable de la regulación de producción de células sanguíneas.

En 1953 Erolev demostró la existencia de un factor eritropoyético en plasma de conejos anémicos.

En 1958 Jacobson y col. hicieron la hipótesis de que era el riñón el lugar de producción.

En 1977 Miyake, Kung y Goldswasser aislaron la EPO de la orina humana.

Entre los años 1981 y 1983 se aisló el gen de la EPO lo que permitió el conocimiento de su código genético. Se prepara un gen artificial, oligonucleotido y se le marca radiactivamente. Este gen es el que se supone va a dirigir la producción de EPO (12).

Para confirmarlo se busca en la librería genética humana. Esta li-

brería se forma a partir del genoma humano, dividiéndolo en pequeñas porciones e introduciéndolo en bacterias. Este oligonucleotido marcado se introduce en la bacteria que contiene la parte del genoma humano que es idéntico a sí mismo, aunque claro está, contiene un segmento del código genético mayor al del gen producido artificialmente.

Se usan enzimas de ADN para separar este gen de ADN bacteriano. Una vez que está aislado se introduce en otra célula, que crece fácilmente en cultivos. Esta célula transcribe el gen insertado y produce eritropoyetina; no todos producen una forma de la hormona que sea biológicamente activa. sólo la línea de mamíferos células ováricas de Hámster Chino, produce EPO que puede estimular una respuesta eritropoyética en animales. La hormona que se produce de esta forma se purifica.

Su comparación con la EPO humana, no arroja diferencias, pues ambas son idénticas según radioinmunoensayo, western-Blot y otras pruebas *in vivo* e *in vitro*.

Farmacocinética

La r-Huepo puede administrarse por vía venosa, peritoneal y subcutánea. Hay numerosos trabajos sobre las diferentes vías y su farmacocinética, pues cada una tiene unos factores más beneficiosos que la otra. En nuestro Servicio se ha venido utilizando la vía venosa para pacientes en hemodiálisis y la subcutánea para pacientes en diálisis peritoneal, ambas por su facilidad de uso (13).

Al principio los estudios se realizaban con dosis muy superiores a los realizados recientemente, en los que se han tenido en cuenta, además de los efectos beneficiosos los efectos secundarios que posee. La mayoría de los centros usan ahora inicialmente una dosis de 25-100 u/k/d de hemodiálisis (14).

Después de la admón IV la hormona es captada en mayor cantidad por la médula ósea y por vísceras como hígado, bazo, riñón. Se considera al hígado como el lugar de máxima degradación de la r-Huepo aunque en la médula ósea se metaboliza una gran parte igualmente. El riñón afecta a un 10%.

Tras la admón IV de r-Huepo la vida media es de unas 6-12 horas. Esto difiere de la vía intraperitoneal

en la cual es de 8 horas. Tras la admón, subcutánea vemos que comienza a elevarse en plasma a las 2 horas, siendo el pico máximo a las 12-18 horas, manteniéndose durante 12-16 horas. Sin embargo, este pico es proporcionalmente más bajo que la admón IV.

EFFECTOS DEL TRATAMIENTO CON r-HUEPO

Determinar la dosis de r-Huepo

Del tratamiento con eritropoyetina se benefician todos aquellos pacientes con IRC que presentan una anemia, en la que se ha descartado otra posible causa, de tal forma que suelen eliminarse:

- Pérdidas de sangre.
- Sin efectos secundarios por aluminio.
- Sin enfermedades sistémicas.
- Con hígado funcionando normal.
- Sin tratamiento inmunosupresor.

Normalmente el estado anémico lo etiquetamos cuando el nivel de Hb es menor o igual a 8 gr/dl, estos límites son los internacionalmente usados, pretendiendo conseguir Hb mayor o igual a 10 gr/dl.

La dosis necesaria para conseguir esta elevación no es una cantidad estándar para todos los enfermos, sino que tiene que ser individualizada y calculada siguiendo estre-

chamente la respuesta a la misma a lo largo del tiempo, modificando la dosis según las necesidades. Incluso cuando conseguimos una dosis idónea para un determinado paciente, deberemos continuar su control, pues hay diversas situaciones como veremos, que pueden hacer que en un momento dado tengamos que variar la dosis.

En nuestro Servicio solemos comenzar con una dosis de 50 u/k/diálisis. Con posterioridad, si la dosis no es suficiente aumentamos 25 u/k/diálisis y así hasta conseguir la dosis individualizada, esto es 3 semanas con niveles de Hb mayores o iguales a 10 gr/dl.

La dosis empleada en nuestros enfermos oscila entre 2.800 U en 2 sesiones semanales hasta 6.000 U/sesión de hemodiálisis, esto es 3 veces por semana.

Igualmente debemos reseñar cómo a lo largo del tiempo esta dosis varía; así durante el invierno, en los 4 enfermos que siguen este tratamiento en HD hemos tenido que elevarles la dosis casi sistemáticamente, mientras en verano hemos tenido que hacer lo contrario (figura 1).

Efectos clínico-analíticos

Los resultados que pretendemos conseguir con este tratamiento son de 2 tipos, los clínicos, que son los que interesan al paciente, y los analíticos; si bien ambos están estrechamente relacionados entre sí (15).

Los clínicos son:

- Mejorar la calidad de vida: la

corrección de la anemia aumenta el apetito, mejora el sueño, disminuye la depresión, mejora la tolerancia al frío, aumenta el crecimiento del pelo (16,17).

— Mejorar la catividad sexual; al igual que una recuperación de los ciclos menstruales debido a que este tratamiento disminuye la pro lactina en sangre, ya que en estos enfermos está elevada (18,19).

— Incremento de la actividad física: con aumento de la energía y tolerancia del ejercicio.

— Aumentar la actividad cerebral (17).

— Impide la sobrecarga de hierro que suele producirse debido a las transfusiones repetidas a las que se tienen que someter o al excesivo suplemento de hierro.

— Mejorar la función cardíaca: La anemia produce dilatación cardíaca que se demuestra que disminuye tras su corrección, al igual que un angor anémico.

— Mejorar la hemostasia, que está deteriorada en pacientes urémicos, siendo la anemia una de las causas.

— Si hay hipotensión, colabora en su corrección.

En nuestros enfermos hemos visto una mejora de la calidad de vida en todos ellos, siendo especialmente llamativa en el 50% de ellos. Igualmente en lo que respecta al aumento de la actividad física. En los demás parámetros no hubo una especial mejoría, destacando en la actividad sexual en la que no hemos detectado cambios (figura 2).

Los datos analíticos:

Por lo que se refiere a los datos analíticos se ha comprobado un

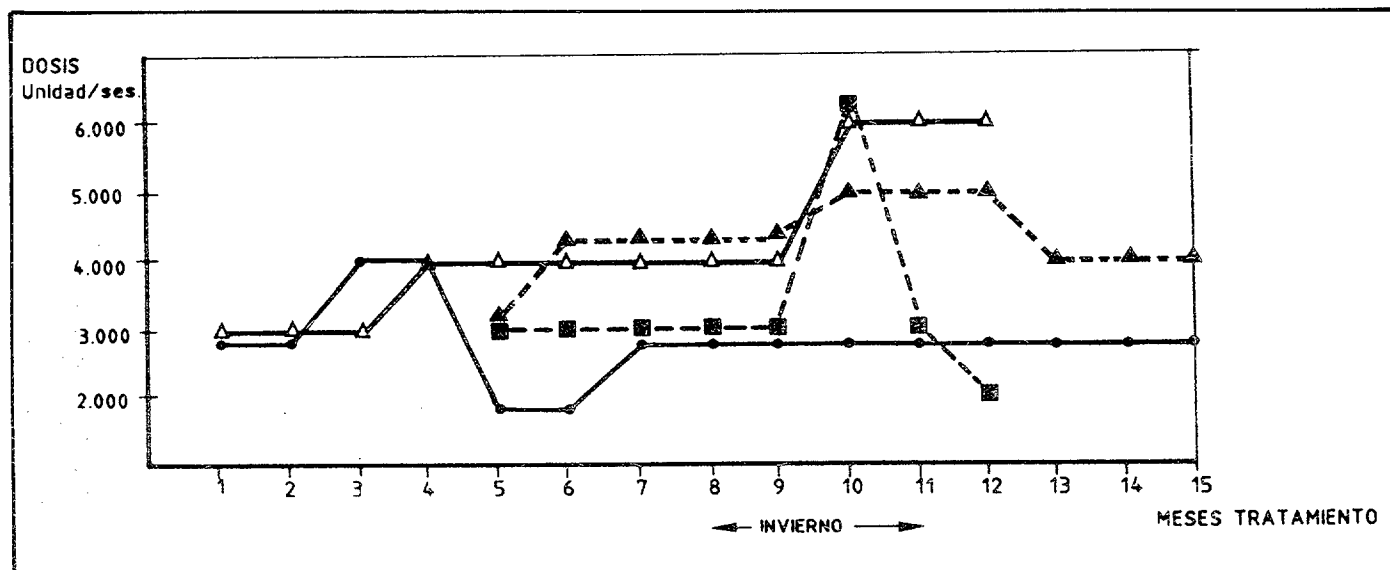


Fig. 1. Evolución de la dosis de r-Huepo durante 15 meses de tratamiento.

aumento de la serie roja en todos los estudios realizados. En nuestro caso lo hemos visto igualmente aumentados tanto el número de hematíes como Hto y Hb.

En el sistemático de sangre, además de la elevación de la serie roja aumentan aunque en menor proporción las plaquetas (20).

En el resto de la bioquímica hemática parece demostrarse que no altera ningún parámetro bioquímico a excepción hecha de la bioquímica del hierro y del fósforo (21). Se ha comprobado en todos los resultados un aumento de las necesidades de hierro debido al exceso de consumo por la síntesis; igualmente bajan los niveles de transferrina y ferritina. No hemos encontrado variaciones en los niveles del fósforo (figura 3).

Efectos secundarios

Dentro de los efectos secundarios se han publicado los siguientes (16,22):

1. Reacción tras su administración (Flu-like-síndrome), que consiste en parestesias, sensación de calor, dolor abdominal. En ninguno de nuestros enfermos ha ocurrido dicha reacción pues administrábamos la r-Huevo en 3 minutos como mínimo.

2. Hipertensión: Es, según todos los autores, la complicación más frecuente. Esta puede ser actual o bien ser una HTA controlada que con esta hormona se exacerba. En la mayoría de las series revisadas aparece en algunos de sus enfermos esta complicación. En nuestros enfermos precisó variación en su tratamiento antihipertensivo un enfermo, el cual falleció por insuficiencia cardíaca pues presentaba cardiopatía hipertrófica por su HTA de larga evolución, por lo tanto no achacable directamente a la EPO.

Parece que la HTA ocurre más fácilmente en pacientes previamente hipertensos o con un Hto mayor a 30 lo cual es nuestro caso (23,15,24). La HTA se debe a varios mecanismos:

- Aumento de la resistencia vascular periférica.
- Aumento de la viscosidad sanguínea.
- Si se eleva el Hto hay descenso de

	MEJORA CALIDAD VIDA	AUMENTO ACTIVIDAD FISICA	AUMENTO ACTIVIDAD CEREBRAL	AUMENTO FUNCION CARDIACA
1	+	++	-	-
2	+++	+++	-	+++
3	++	++	+	++
4	+++	+++	-	-

Fig. 2. Datos de mejoría clínica.

la postcarga, lo que aumenta las resistencias vasculares.

3. Trombosis: Es frecuente la trombosis del filtro de la diálisis requiriendo un aumento de la dosis de heparina. Igualmente se ha detectado en menor proporción una trombosis de la fistula (25).

Dentro de nuestra experiencia se ha dado un caso de trombosis de la fistula arteriovenosa en un paciente arterioesclerótico y diabético que previamente al tratamiento tenía una fistula con buen flujo. Pese a la sustitución de la misma por una prótesis vascular artificial que igualmente se trombosó.

4. Eficacia de la diálisis: Teóricamente, ésta tiene que disminuir en estos pacientes por disminución del flujo plasmático efectivo por aumento de la masa celular (12).

5. Hiperpotasemia.

6. Disminución del hierro sérico: Lo que obliga a un aporte externo del mismo en muchos pacientes para hacer frente a la demanda,

necesaria para la formación de la serie roja. En todos nuestros enfermos fue preciso la introducción de Fe en su tratamiento, siendo en uno de ellos hierro intravenoso (26,16,27).

7. Otra complicación es el desarrollo de una resistencia a la r-Huevo que impide su acción, esta puede deberse a:

- Déficit de hierro: siendo el consumo la causa más frecuente, pudiendo detectarlo por el índice de saturación de transferrina, la ferritina y el hierro plasmático.
- Anticuerpos anti r-Huevo.
- Intoxicación por aluminio: Se cree que evita la unión del hierro a la transferrina impidiendo que pueda usarse en la síntesis celular.
- Hiperparatiroidismo: Por 2 mecanismos: uno la existencia de osteitis fibrosoquística que reduce la efectividad de la misma y otra es que la población celular eritroide es más vieja en estos enfermos que en los que tienen la parathormona normal.

	HTco.	Hem.	Hb.	Fe	Ferrif.	K	Urea	Creat.	P
Comienzo	19	2	6,12	92,2	-	5,8	2,51	15,2	7,7
Mes	20,8	2,23	7,72	56,25	370,2	5,7	1,54	13,4	7,13
Final	26	3,07	9,45	65,75	412,6	5,6	1,87	14,9	6,3

Fig. 3. Media de datos analíticos al comienzo, al mes y al final del tratamiento.

— Enfermedades intercurrentes durante el tratamiento como pericarditis, infecciones, cirugía. Esta podría ser la explicación de que los enfermos necesiten una mayor dosis en invierno que en verano.

De entre todos ellos se ha presentado un caso de hipertensión arterial, una trombosis de la fistula que hemos solucionado con fibrinolíticos, y en todos una ferropenia que precisó reposición de hierro (figura 4).

CONCLUSIONES

1. La administración de r-Huepo consigue, a corto plazo, una mejoría significativa del estado general y de la calidad de vida de los enfermos.
2. Las cifras de Hb alcanzaron elevación significativa a las 4 semanas.

	REACCION INMEDIATA	HTA	TROMBOSIS	DIMINUCION EFICACIA DE DIALISIS	↑ K	↓ Fe	RESISTENCIA A LA EPO
1	-	-	++	-	-	+++	++
2	-	++	-	+	-	+	+
3	-	-	-	-	-	+++	-
4	-	-	-	-	-	-	-

Fig. 4. Efectos secundarios durante el tratamiento.

3. No hubo cambios en las cifras de potasio, urea y creatinina, ni en el resto de las determinaciones analíticas.
4. Las cifras de hierro sérico disminuyeron en 4 enfermos obligando a su administración.
5. No hubo modificaciones en la tensión arterial ni necesidad de cam-

biar las técnicas de diálisis, ante el incremento de Hto.
6. Tampoco se registraron otros efectos secundarios salvo la trombosis de la fistula en un caso y el aumento de la tensión arterial en otro. Pese a todo, en ellos se notó una sensación subjetiva de mejoría que en algún caso llegó a la euforia.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—ESCHBACH, J.W.: "The anemia of chronic renal failure. Pathophysiology and treatment with recombinant human erythropoietin". Resúmenes de la XXI Reunión Nacional de la Sociedad Española de Nefrología.
- 2.—McGONIGLE, R.J.; HUSSERL, F.; WALLIN, J.D.: "Hemodialysis and CAPD effects on erythropoiesis in renal failure". *Kidney Int.* 25:430-436, 1985.
- 3.—RADRKE, H.; REGE, A.; LA MARCHE, M.: "Identification of spermine as an inhibitor of erythropoiesis in patients with chronic renal failure". *J. Clin. Invest.* 67:1625-1629, 1981.
- 4.—AL-MOSAWI, M.S.A. and KAABA, S.A.: "Pathogenesis of anaemia in chronic renal failure". *Abstracts of the scientific meeting on erythropoietin*. London, 1987.
- 5.—MARY COTES, P.; PIPPARD, M.J.; REID, C.G.: "Characterization of the anaemia of chronic renal failure and the mode of its correction by preparation of human erythropoietin (r-Huepo). An investigation of the pharmacokinetics of intravenous erythropoietin and its effects on erythrokinetics". *Quarterly Journal of Medicine.* 262:113-137, 1989.
- 6.—WINEARLS, C.G.; PIPPEAR, M.J.; DOWING, M.R.: "Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis". *The Lancet*. November, 1986. 1175-1178.
- 7.—B'BRIEN, A.A.J.; MOORE, D.P.; KEOGH, J.A.B.: "Response of normochromic normocytic anaemia of chronic renal failure to desferrioxamine". *Abstracts of scientific meeting on erythropoietin*. London, 1987.
- 8.—BROWNE, J.: "Erythropoietin: historical perspective and biotechnology". *First international symposium on recombinant human erythropoietin*, 1987.
- 9.—JOHNSON, G.R.: "Erythropoietin". *British Medical Bulletin*. Vol. 45. No 2:506-514, 1989.
- 10.—WINEARLS, C.G.: "Erythropoietin". *Nephrol. Dial. Transplant* 4:323-326, 1989.
- 11.—ED.: "Eitropoyetina humana recombinante". *Anales de medicina interna*. Junio, 1989.
- 12.—PONTICELLI, CASATI, S.: "Correction of anaemia recombinant human erythropoietin". *Nephron*. 52:201-208, 1989.
- 13.—SUNDAL, E.; BUSINGER, J. and BOUGHTON, K.: "Recombinant human erythropoietin (r-Huepo) a comprehensive clinical review". *Drugs of Today*. 25:799-816, 1989.
- 14.—Ad hoc Committee for the national Kidney Foundation: "Statement on the clinical use of recombinant erythropoietin in anaemia of end-stage renal disease". *Am. J. Kidney Dis.* 3:163-169, 1989.
- 15.—LIN, F.L.; SUGGS, S.; LIN, C.H.: "Cloning and expression of the human erythropoietin gene". *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 82:7580-7584, 1985.
- 16.—KOENE, R.A.P.: "Treatment of pre-dialysis patients on chronic ambulatory peritoneal dialysis with recombinant-human erythropoietin". Resúmenes de la XXI Reunión Nacional de la Sociedad Española de Nefrología.
- 17.—NIESENSAI, A.R.: "Recombinant human erythropoietin: Impact on brain and cooperative function, exercise tolerance, sexual potency, and quality of life". *Seminars in Nephrology* vol. 9 No. 1:25-31, 1989.
- 18.—SCHAEFER, R.M.; KOKOT, F.; KURNER, B.: "Normalization of elevated prolactin levels in hemodialysis patients on erythropoietin". *Nephron* 50:400-401, 1988.
- 19.—BOMMER, J.; DEL POZO, E.; TIZ, E.: "Improved sexual function in male haemodialysis patients on bromocriptine". *Lancet* II:496-497, 1979.
- 20.—ESCHBACH, J.W.; ADAMSON, J.W.: "Correction of anaemia of haemodialysis patients of recombinant human erythropoietin: results of a multicenter study". *Kidney int.* 33:189, 1988.
- 21.—VAN WYCK, B.: "Iron management during recombinant human erythropoietin therapy". *Am. J. Kidney Dis.* XIV:9-13, 1989.
- 22.—CASATI, S.; PASSERINI, P.; CAMPISE, M.R.: "Benefits and risks of protracted treatment with human recombinant erythropoietin in patients having haemodialysis". *British Medical Journal* 295:1017-1020, 1987.
- 23.—MANGIAROTTI, R.; CASATI, S.; PIERINI, A.: "Cardiac performances in haemodialysis patients after correction of anaemia with human recombinant erythropoietin". *Abstracts of scientific meeting on erythropoietin*. London, 1987.
- 24.—LEVIN, N.: "Management of blood pressure changes during recombinant human erythropoietin therapy". *Seminars in Nephrology* 9:16-20, 1989.
- 25.—ESCHBACH, J.W.; EGRIE, J.C.; DOWING, M.R. et al.: "Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis". *Lancet* II:1175-1178, 1986.
- 26.—ESCHBACH, J.W.; KELLY, M.R.; HALEY, N.R.: "Treatment of the anemia of progressive renal failure with recombinant human erythropoietin". *N. Eng. J. Med.* 321:158-163, 1989.
- 27.—"Correction of the anaemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin". *N. Eng. J. Med.* 316:73-78, 1987.
- 28.—STILVEMAN, J.C.: "Resistance to recombinant human erythropoietin therapy: a renal clinical entity P". *Seminars in Nephrology* 9:8-11, 1989.